

**EINFLUSS UMWELTFREUNDLICHER GASE
UND AEROSOLE AUF VACCINIA - VIRUS
IM SIMULIERTEN LUFTGETRAGENEN ZUSTAND
(MODELLVERSUCHE)**

ANTON HEUSINGER

1987

Disbui. München





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554631_0002

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:
Prof. Dr. H. Mahnel

EINFLUSS UMWELTFREUNDLICHER GASE UND AEROSOLE
AUF VACCINIA-VIRUS
IM SIMULIERTEN LUFTGETRAGENEN ZUSTAND
(MODELLVERSUCHE)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Anton Heusinger
aus
Breitensee

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. H. Zucker
Referent:	Prof. Dr. H. Mahnel
Korreferent:	Prof. Dr. J. Unshelm

Tag der Promotion: 24. Juli 1987

1. EINLEITUNG	1
---------------	---

2. THEORETISCHES	2
------------------	---

2.1. Einführung in die Theorie der Viren	2
--	---

2.2. Aufbau und Funktion von Viren	3
------------------------------------	---

2.2.1. Klassifizierung der Viren nach Replikationszyklus	3
--	---

2.2.2. Struktur, die auf den Replikationszyklus	4
---	---

bezieht	4
---------	---

Meinen Eltern

2.3. Immunisierung	5
--------------------	---

2.3.1. Immunisation durch	5
---------------------------	---

2.3.2. Immunisation durch	6
---------------------------	---

2.4. Viruslast-Quantifizierung und -bestimmung	7
--	---

2.5. Epidemiologie der Infektionskrankheiten	8
--	---

3. EXPERIMENTELLE VERFAHREN	9
-----------------------------	---

3.1. Material und Methoden	9
----------------------------	---

3.1.1. Zellkulturen	10
---------------------	----

3.1.2. Virus	11
--------------	----

3.1.3. Quantifizierung und Identifizierung	12
--	----

Virusnachweis	12
---------------	----

3.1.4. Tissue Culture	13
-----------------------	----

3.1.5. Virusnachweis	14
----------------------	----

3.1.5.1. Antikörper	14
---------------------	----

3.1.5.2. Virusnachweis	15
------------------------	----

3.1.5.3. Bestimmung der Virulenz	16
----------------------------------	----

3.1.5.4. Identifizierung der Viren	17
------------------------------------	----

mit Antikörpern	17
-----------------	----

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. SCHRIFTTUM	3
2.1. Luft als Vektor für Viren	3
2.2. Stabilität von Viren	5
2.2.1. Stabilität von luftgetragenen Viren	6
2.2.2. Faktoren, die auf luftgetragenes Virus einwirken	7
2.3. Desinfektion von Viren	11
2.3.1. Viruzide Gase	14
2.3.2. Viruzide Aerosole	16
2.4. Vaccinia-Virus als Modell für Pockenviren	20
2.5. Desinfektion von Pockenviren	21
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	24
3.1. Material und Methoden	24
3.1.1. Zellkulturen	24
3.1.2. Virus	25
3.1.3. Qualitativer und quantitativer Virusnachweis	25
3.1.4. Gase und Aerosole	27
3.1.5. Versuchsanordnung	29
3.1.5.1. Fadenträger	29
3.1.5.2. Versuchskammer	30
3.1.5.3. Begasung der Träger	32
3.1.5.4. Behandlung der Träger mit Aerosolen	35

	Seite
3.2. Versuche und Ergebnisse	38
3.2.1. Problematik der Versuchsanordnung	38
3.2.2. Vorversuche	40
3.2.3. Stabilität des angetrockneten Virus	47
3.2.4. Hauptversuche	48
3.2.4.1. Einfluß umweltneutraler Gase auf trägerbundes Virus	48
3.2.4.2. Inaktivierungsversuche mit viruziden Aerosolen	59
4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	66
5. ZUSAMMENFASSUNG	74
6. LITERATURVERZEICHNIS	76

1. EINLEITUNG

Viren gelangen entweder direkt von infizierten Menschen und Tieren oder indirekt durch Reentrainment in die Luft eines Raumes bzw. eines Stalles. Übersteigt die Viruskontamination der Luft eine gewisse Konzentration, so erhöht sich für empfängliche Organismen das Infektionsrisiko.

Bereits in der Antike wurde versucht, mit Schwefeldämpfen und Räucherungen (Boswellia - Arten) die Verbreitung ansteckender Krankheiten mit der Luft zu verhindern (HOMER, Ilias). Heute hat die Desinfektion der Luft eines Raumes oder Stalles die Aufgabe, gezielt Luftkeime zu inaktivieren oder sie wenigstens zahlenmäßig zu reduzieren, um so das Infektionsrisiko zu mindern.

Ein viruzid wirksames Desinfizienz muß bei der Raumluftdesinfektion aerogenes Virus sicher inaktivieren. Daneben sind aber noch weitere Konditionen zu erfüllen oder, je nach Anwendungsbereich, erwünscht. Die Desinfektionsmethode soll umweltneutral sein und keine toxischen, kancerogenen oder mutagenen Rückstände hinterlassen, sie darf unter Umständen technische Geräte und elektronische Einrichtungen nicht angreifen oder außer Funktion setzen und am besten auch Mensch und Tieren nicht schaden. Jedoch erfüllt kein Desinfizienz all diese Anforderungen gleichzeitig.

In den Standard- und Nachschlagewerken der Hygiene und der Desinfektion wird für die Luftdesinfektion auf verschiedene Verfahren der Formalin-Begasung und der Ausbringung von Formalinaerosolen hingewiesen. Formalin inaktiviert Viren zuverlässig, der Einsatz zur Raumluftdesinfektion wird allerdings durch seine Toxizität, den stechenden Geruch und durch die korrosive Wirkung auf empfindliche Geräte begrenzt.

Mit der zunehmenden Aufnahme modernster und zugleich hochempfindlicher Geräteausstattungen in Labor- und Praxisräume wird das Verlangen nach einfachen, umweltneutralen und vor allem auch nicht aggressiven Desinfektionsmethoden immer dringlicher. Eine Dekontamination mit Gasen oder Aerosolen hat den Vorteil, auch Hohlräume in Geräten, Spalten und Flächen eines Raumes zu erreichen.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es zu untersuchen, inwieweit umweltfreundliche Gase sowie möglichst neutrale rückstandsfreie Aerosole luftgetragenes, an feine Träger gebundenes Vaccinia-Virus, anerkannt als Testvirus für behüllte Virusarten, zu inaktivieren vermögen. Da Virusaaerosole, wie etwa kontaminierte Tröpfchen oder Staubpartikel, im Experiment nur mit sehr großem technischen Aufwand für die Dauer der Untersuchungen in Schwebelage gehalten werden können, wurde das Mikrothread - Verfahren, ursprünglich für luftgetragene Bakterien entwickelt, modifiziert und auf diese Art ein "stabiles Virusaaerosol" simuliert.

2. SCHRIFTTUM

2.1. Luft als Vektor für Viren

Zahlreiche Viruskrankheiten der Tiere und des Menschen werden auf dem Luftweg übertragen (HYSLOP, 1971, 1973; KAADEN, 1985), wobei sowohl für unbehüllte (SELLERS und HERNIMAN, 1974; SELLERS, 1975) als auch für behüllte Viren (COMLY, 1971) diese indirekte Übertragung nachgewiesen ist. Unter anderem kommt für folgende wirtschaftlich bedeutsame Viruskrankheiten der Tiere die Luft als Vektor in Frage:

- Maul- und Klauenseuche (FOGEDBY, 1960; HENDERSON, 1969; SELLERS und PARKER, 1969; DONALDSON et al., 1970; HUGH-JONES und WRIGHT, 1970; CHAMBERLAIN, 1970; SELLERS, 1971; GLOSTER et al., 1981, 1982; DONALDSON et al., 1982);
- Aujeszkysche Krankheit (KRETZSCHMAR, 1964; WEKERLE et al., 1983; DONALDSON et al., 1983; MACK et al., 1986)
- Infektiöse Bovine Rhinotracheitis (COMLY, 1971);
- Afrikanische Schweinepest (WILKINSON et al., 1977).

Aber auch die Tollwut kann durch infektiöse Aerosole in Höhlen mit blutsaugenden Fledermäusen Südamerikas übertragen werden (CONSTANTINE, 1969; AFSHAR, 1979).

Für eine erfolgreiche Übertragung von Viruskrankheiten mit der Luft gelten allerdings folgende Bedingungen:

- Ausscheidung der Viren in hoher Konzentration,
- hohe Tenazität des Virus in der Atmosphäre,
- günstige klimatische und meteorologische Bedingungen,
- ausreichende Dichte empfänglicher Organismen (LUTZ, 1983; KAADEN, 1985).

GEISSLER et al. (1970) verstehen unter dem Begriff "biologische Kontamination der Luft" luftgetragene Bakterien, Pilze, Viren und Pollen.



Nach JARNYCH (1976) sollen Viren und Bakterien als Einzelpartikel in der Luft verfrachtet werden, da sie im luftgetragenen Zustand keine Konglomerate mit anderen organischen oder anorganischen Partikeln bilden. Infolge ihrer geringen Größe (20 - 300 nm) sollen sich deshalb Viren wie inerte Gase verhalten und könnten so über sehr weite Strecken transportiert werden.

BITTON (1975) vertritt dagegen die Auffassung, daß Viren elektrisch geladene Partikel darstellen, die sich außerhalb einer Wirtszelle an bestimmten Oberflächen anheften können. Viren liegen der Mehrzahl neuerer Untersuchungen zufolge nicht als Einzelpartikel vor, sondern werden in der Luft adsorbiert an diverse größere Partikel transportiert (HILBIG und HILLIGER, 1973; MÜLLER et al., 1978; MAHNEL, 1983; KAADEN, 1985). Für die Übertragung durch die Luft sind neben den belebten Vektoren (v.a. Dipteren) in erster Linie virushaltige Aerosole, je nach ihrer Genese Flüssigkeits- oder Feststoffaerosole, verantwortlich. Virusaerosole entstehen, indem klinisch inapparent infizierte oder kranke Individuen Virus mit Sekreten, Exkreten und Exsudaten ausscheiden, aber auch Hautabschilferungen, Fell- und Gefiederteile sowie Borken- und Krustenteile können Viren enthalten (ROLLE und MAYR, 1984).

Die Verteilung flüssiger und fester Stoffe in einem gasförmigen Medium wird als Aerosol bezeichnet. Dispersionsaerosole entstehen, indem feste Stoffe pulverisiert bzw. Flüssigkeiten zerstäubt und in den luftgetragenen Zustand überführt werden. Durch die Zusammenlagerung von Einzelmolekülen entstehen Kondensationsaerosole. Entsprechend verwendet JARNYCH (1976) die Begriffe "Stäube" für die Dispersion pulverisierter Stoffe und "Räuche" für die Kondensation fester Partikel.

Nach LUTZ (1983) sind die luftgetragenen Partikel durchschnittlich 10 μm groß, wobei die Luftkeime in der Stallluft als Riesenkerne, vermutlich als echte Mischkerne vorliegen (HILBIG und HILLIGER, 1973).

Mikroorganismen, die in der Stallluft zu Clustern aggregiert bzw. an größere Staubteilchen gebunden sind, stellen als biologisches Stallaerosol zumindest für die gleiche Spezies in der Umgebung ein Infektionsrisiko dar (MÜLLER et al., 1978). Während Flüssigkeitsaerosole, die relativ wenig Viruspartikel enthalten, langsam zu Boden sinken (ca. 1,2 cm/min), sedimentieren Stäube, die relativ hohe Viruskonzentrationen aufweisen, relativ rasch (45 cm/min) (KAADEN, 1985).

2.2. Stabilität von Viren

Die Tenazität von Viren gegenüber physikalischen und chemischen Einflüssen, also auch gegenüber Desinfektionsmaßnahmen, hängt weitestgehend von ihrem Aufbau ab. Allgemein verhalten sich kleine nackte Viruspartikel, die nur aus Nukleinsäure (unabhängig ob DNS oder RNS) und einem Proteinkapsid bestehen, widerstandsfähiger als behüllte Viren. Die labilste Struktur eines Virus bildet, soweit vorhanden, die lipidhaltige Hülle mit den virusspezifischen Glykoproteinen. Daneben haben noch Strukturproteine und viruseigene Enzyme Bedeutung für die Virusstabilität (SCHLIESSER und STRAUCH, 1981; ROLLE und MAYR, 1984).

Die Infektion einer permissiven Zelle mit anschließender Virusreproduktion kann nur stattfinden, wenn alle Strukturen eines Virus (Nukleinsäure, Enzyme, Strukturproteine und die eventuell vorhandene Hülle) unversehrt intakt sind. Wird die Nukleinsäure geschädigt oder zerstört, kann ein Virus zwar in eine Zelle eindringen, ist aber nicht mehr fähig sich zu vermehren.

Um die Infektiosität eines Viruspartikels irreversibel zu beseitigen, genügt es nach MAHNEL (1983, 1984) schon, die Oberflächenstruktur so zu verändern, daß sich der obligate Zellparasit nicht mehr an die Zelloberfläche anheften und diese penetrieren kann. Das Virusgenom, das für die Virusreproduktion in der Zelle essentiell ist, kann dabei jedoch intakt bleiben.

Virusgruppen verschiedener Morphologie sowie Virusarten gleicher Familien können z.T. deutliche Unterschiede in ihrer Tenazität aufweisen (ALBRECHT, 1957; MAHNEL, 1974, 1979, 1983). Neben ihrer Struktur beeinflußt der Zustand, in dem Viruspartikel vorliegen, ihre Widerstandsfähigkeit. An Zellen oder Wirtsprotein gebundenes sowie in viskösen Medien, z.B. Serum, suspendiertes Virus verhält sich wesentlich stabiler als zellfreies (KRAATZ, 1984). Trocknung oder Gefrieren stabilisiert Viren gegenüber Umwelteinflüssen, dagegen nimmt die Tenazität von zellfreien, in Wasser suspendierten Viren ab (MAHNEL et al., 1977; MAHNEL, 1983, 1984; ROLLE und MAYR, 1984).

2.2.1. Stabilität von luftgetragenen Viren

Daß Influenza-Virus in eingetrocknetem, zerstäubtem Sputum für längere Zeit infektiös bleiben kann, ist seit langem bekannt (SCHMIDT und BRAND, 1955). Auch Viren anderer Familien, wie das Venezuelanische Equine Encephalomyelitis-Virus, das Poliomyelitis-Virus des Menschen oder das Vaccinia-Virus behalten im luftgetragenen Zustand für längere Zeit ihre Infektiosität. Die Tenazität von aerogen verbreiteten Viren hängt im wesentlichen von ihrer Struktur ab. Unbehüllte Viren erweisen sich auch im luftgetragenen Zustand als weitaus widerstandsfähiger gegen Umwelteinflüssen als Viren mit einer Lipidhülle (vgl. 2.2.) (HARPER, 1961).

An Zellmaterial oder an viskösen Medien angetrocknetes Virus behält seine Infektiosität wesentlich länger. Zwar treten bei der Antrocknung große Verluste an infektiösem Virus auf, getrocknetes Virus verhält sich aber auch im luftgetragenen Zustand relativ stabil (MAHNEL, 1983).

In experimentell erzeugten Virusaerosolen beeinflusste Eiweiß kaum luftgetragenes Virus, wichtiger war vielmehr die richtige Salzkonzentration (NaCl, KCl) (HARPER, 1965). DE JONG und WINKLER (1968) betonen dagegen die stabilisierende Wirkung von Proteinen auf Viren im Aerosol. Hohe Salzkonzentrationen beschleunigen die Inaktivierung der aerogenen Viren, während Proteine und Polyhydroxyverbindungen sie retardieren (BENBOUGH, 1971; TROUWBORST et al., 1972, 1973, 1974). Bei den Untersuchungen bereitete es große Schwierigkeiten, tatsächliche Virusverluste infolge einer Inaktivierung von solchen Verlusten zu unterscheiden, die dadurch auftreten, daß Virus aus dem Aerosol sedimentiert.

Natürliche Aerosole aus Körperflüssigkeiten, die Eiweiß enthalten, stabilisieren Virusaerosole. Allerdings können natürliche Medien, wie z.B. Speichel, auch spezifische Antikörper enthalten (HYSLOP, 1973). Maul- und Klauenseuche-Virus mit Speichelflüssigkeit versprüht verliert seine Infektiosität. Hierfür machen BARLOW und DONALDSON (1973) ein organisches Molekül im Speichel verantwortlich, das die Inaktivierung bewirkt.

2.2.2. Faktoren, die auf luftgetragenes Virus einwirken

Auf Viren im luftgetragenen Zustand wirken die verschiedensten Umweltfaktoren ein. Dabei zeigen die Mikroorganismen eine große Vielfalt in ihrer Widerstandsfähigkeit. Allerdings verhält sich aerogenes Virus stets labiler als wenn es von organischem Material geschützt an Oberflächen anhaftet (HARPER, 1965).

Eine relative Luftfeuchtigkeit zwischen 60 und 80 % sowie eine Umgebungstemperatur zwischen 20 und 25°C stabilisieren Aerosole und die Widerstandsfähigkeit vieler Virusspezies im Aerosol (v. SPROCKHOFF und MARSCHALL, 1984; KAADEN, 1985).

R e l a t i v e L u f t f e u c h t i g k e i t

Die relative Luftfeuchtigkeit stellt eine große Variable sowohl in der Außenluft als auch in Tierställen dar. Über den Einfluß der relativen Luftfeuchte auf die Stabilität von Viren wurden zahlreiche Untersuchungen durchgeführt, die unterschiedliche Ergebnisse erbrachten. Zusammenfassend verhalten sich Viren mit Lipidhülle (z.B. das Venezuelanische Equine Enzephalomyelitis-, das Vaccinia- oder das Influenza-Virus) bei einer geringen relativen Luftfeuchtigkeit (≤ 50 %) stabiler. Unbehüllte Viruspartikel (z.B. das Poliomyelitis-Virus des Menschen) werden dagegen nur bei einer höheren relativen Luftfeuchtigkeit (≥ 50 %) stabilisiert (HEMMES et al., 1960; HARPER, 1961, 1965; DE JONG und WINKLER, 1968; DE JONG et al., 1964, 1974, 1975; BENBOUGH, 1971; DONALDSON, 1972; DONALDSON und FERRIES, 1976). Im Aerosol verhalten sich nach HYSLOP (1973) Viren mit Hülle wesentlich stabiler als unbehüllte Viruspartikel.

Unbehülltes Virus wird bei einer geringen Luftfeuchte infolge einer Dehydratation destabilisiert, weil Wassermoleküle verloren gehen, die für die Struktur des Nukleokapsids essentiell sind (DE JONG et al., 1974, 1975).

Viren mit Hülle verlieren dagegen an Infektiosität, wenn bei einer hohen Luftfeuchtigkeit hydrophobe Anteile (Lipide) der Virusoberfläche heraus an die Luft treten und es zu einem Umordnungsprozeß und einer Neuordnung der Moleküle kommt. Diese sogenannte Oberflächeninaktivierung wird im Flüssigkeitsaerosol bei einer großen Luft - Wasser - Interphase noch verstärkt (TROUWBORST und DE JONG, 1973; TROUWBORST und KUYPER, 1974; DE JONG et al., 1976). Beide Prozesse führen zu einer Veränderung der Virusoberflächenstruktur und damit zu einem Infektiositätsverlust.

U m g e b u n g s t e m p e r a t u r

Die Empfindlichkeit gegenüber Wärme gilt auch für aerogen verbreitetes Virus. Gleichzeitig steigt der Einfluß der Temperatur auf die Tenazität der Viren bei einer ungünstigen Luftfeuchtigkeit (HARPER, 1965; EHRLICH und MILLER, 1971; MOE und HARPER, 1983).

Die meisten Viren verhalten sich thermolabil, überstehen jedoch kurzfristig normale Raumtemperaturen zwischen 18 und 25°C wie auch tiefe Umgebungstemperaturen ohne Verluste an Infektiosität (MAHNEL, 1979; ROLLE und MAYR, 1984; KAADEN, 1985).

S t r a h l u n g

Auf aerogenes Virus wirken Strahlen verschiedener Wellenlänge ein. Sonnenlicht, besonders die ultravioletten Strahlen, inaktiviert Virus in kurzer Zeit, wenn dieses ungeschützt, d.h. ohne stabilisierende Medien wie Eiweiß vorliegt (JENSEN, 1964). HYSLOP (1973) bestätigt, daß behüllte Viren, allen voran Herpes-Viren, besonders lichtempfindlich sind, wenn die Aerosole keine Proteine enthalten. Selbst nach dem Herausfiltrieren der ultravioletten Strahlen wirkt Licht für viele Viren destabilisierend, allerdings wird ihre Überlebensfähigkeit durch visköse Medien und durch Antrocknung stabilisiert (MAHNEL, 1983, 1984).

Der Infektiositätsverlust beruht vor allem auf einer Schädigung der Nukleinsäure. Etliche Autoren betonen, daß sich Viren mit einer doppelsträngigen DNS oder RNS resistenter gegen Strahlen verhalten als Viren mit einer einsträngigen Nukleinsäure. Aber auch andere Virusbestandteile sollen durch Strahlen geschädigt werden und so zu einem Infektiositätsverlust führen (BOLING und RANDOLPH, 1977; MAHNEL et al., 1980).

Nach ANDERSON und COX (1967) sollen Viruspartikel in trockenen Aerosolen, die durch Sonnenlicht ihre Infektiosität verloren hatten, wieder reaktiviert werden, wenn sie ins Dunkle verbracht werden.

Open air factor (OAF)

Verschiedene Luftbeimengungen wirken auf luftgetragenes Virus destabilisierend. Nach MAY et al. (1969) liefern Versuche über Luftentkeimung im Labor falsche Ergebnisse, da Frischluft bedeutend bakterizider und viruzider wirkt als Luft in geschlossenen Räumen. So wird Semliki Forest-Virus nach Exposition in frischer Luft rascher inaktiviert als im Labor (BENBOUGH und HOOD, 1971).

Schon früher bezeichneten MAY und DRUETT (1968) den mikrobiziden Einfluß der freien Atmosphäre als "open - air - factor" (OAF), den oder die germiziden Bestandteile konnten sie jedoch nicht definieren. Jedenfalls korreliert der OAF nicht mit dem Ozongehalt der Luft. MAY und DRUETT (1968) machen den Anteil an SO_2 , N_2 , HCOH in der Luft und Ionen für die Inaktivierung verantwortlich. HYSLOP (1973) und SELLERS et al. (1973) vertreten die Ansicht, daß die chemische Luftverschmutzung, v.a. die Säuren, destabilisierend auf aerogenes Virus wirkt. Ein Reaktionsprodukt aus Ozon und Olefinen mit einem Molekulargewicht zwischen 50 und 100 bildet nach HOOD (1974) den germiziden Bestandteil des OAF. Da Olefine in den Abgasen von Verbrennungsmotoren enthalten sind, soll die Luft in Städten wesentlich mikrobizider wirken als die Luft über dünn besiedelten Gebieten.

V. SPROCKHOFF und MÜLLER (1978) definieren zusammenfassend die atmosphärischen Luftbeimengungen an freien Radikalen ($\text{O}_2^\cdot$, $\text{N}_2^\cdot$, $\text{NO}_2^\cdot$, $\text{SO}_2^\cdot$) als die germiziden Bestandteile des OAF. Die Radikale reagieren chemisch mit viralen Enzymen sowie Eiweißmolekülen und destabilisieren so luftgetragenes Virus.

L u f t s a u e r s t o f f

ANDERSON und COX (1967) ersetzten Sauerstoff durch Stickstoff und konnten so Bakterien und Viren für längere Zeit infektiös erhalten, als wenn die Mikroorganismen der normal zusammengesetzten Luft exponiert waren. Anderen Untersuchungen zufolge werden dagegen Viren durch Luftsauerstoff nicht destabilisiert, im Gegensatz zu Bakterien (DE JONG und WINKLER, 1968; RECHSTEINER und WINKLER, 1969; BENBOUGH, 1971; DE JONG et al., 1975).

M i l i e u

In extrem saurem (pH 2 - 4) bzw. alkalischem (pH $\geq$ 11) Milieu werden Viren rasch inaktiviert, bei pH-Werten um den Neutralbereich (pH 6 - 8) werden sie dagegen stabilisiert (TRAUTWEIN und KRÜGER, 1977).

2.3. Desinfektion von Viren

Als Präventivmaßnahme gegen Infektionskrankheiten spielt die Desinfektion neben der Impfprophylaxe und der Chemotherapie auch heute noch eine sehr wichtige Rolle (SCHLIESSER, 1986). Desinfizieren heißt, die Ansteckungsgefahr (Infektionsgefahr) zu beseitigen, die von einem Träger (Körper, Raum oder Gegenstand) infektiöser Mikroorganismen ausgeht (DAB). Heute versteht man unter Desinfektion die gezielte Vernichtung bestimmter Mikroorganismen (ROLLE und MAYR, 1984).

Um ein Virus zu desinfizieren, d.h. seine Infektiosität irreversibel zu beseitigen, sind alle artifiziellen Veränderungen am Viruspartikel geeignet, die seine Fähigkeit zum Eindringen und zur Vermehrung in einer permissiven Zelle entscheidend beeinträchtigen oder aufheben (MAHNEL, 1983, 1984; ROLLE und MAYR, 1984).

Viren stellen für die Desinfektion nach ihrer Morphologie, Funktion, Pathogenität, Virulenz und Tenazität bedeutend variablere Erreger dar als Bakterien (TRAUTWEIN und KRÜGER, 1977). Ein viruzider Wirkstoff kann die Virusnukleinsäure, das Proteinkapsid und eingeschlossene Aktivitäten oder die Hülle (bei behüllten Viren) angreifen (MAHNEL, 1983). Allgemein verhalten sich behüllte Viren weniger resistent gegenüber Desinfektionsmaßnahmen als nackte Viruspartikel (MAHNEL, 1983, 1984; ROLLE und MAYR, 1984).

Für die Inaktivierung von Mikroorganismen sind nach SPICHER (1973) zwei Hauptfaktoren entscheidend:

1. Wirkungsbedingungen (Konzentration, Temperatur, Einwirkdauer, pH-Wert und umgebendes Milieu);
2. Tenazität der Mikroorganismen.

So schützen organische und anorganische Verschmutzungen die Mikroorganismen vor der direkten Einwirkung der Desinfektionsmittel, oder treten hierdurch unerwünschte Verdünnungseffekte auf (ROLLE und MAYR, 1984). Staub und Luftverschmutzung vermindern, schnelle Abtrocknung beschleunigt den Desinfektionseffekt (THIEL, 1977).

Auch bei der Desinfektion gilt die van't Hoff'sche Reaktionsgeschwindigkeits - Temperatur - Regel (RGT - Regel): Sinkt die Temperatur um 10°C , so reduziert sich die Reaktionsgeschwindigkeit um das zwei- bis dreifache. Damit ein Desinfektionsmittel auch bei hoher Luftbewegung in einem Raum effizient ist, muß es länger einwirken, da durch die Luftbewegung die Temperatur sinkt (THIEL, 1977).

Eine hohe relative Luftfeuchtigkeit beeinflusst die Desinfektionswirkung gemeinhin positiv, da ein Wirkstoff besser in Schmutzpartikel diffundieren kann (Tiefenwirkung). Angeetrocknetes Virus wird aufgeweicht und gelöst, wodurch das Desinfizienz direkt auf das Virus einwirken kann (MAHNEL, 1984).

Schließlich spielt bei der Virusdesinfektion das Milieu noch eine entscheidende Rolle, denn viele Desinfektionswirkstoffe werden nur in bestimmten pH Bereichen optimal wirksam (WALLHÄUSSER, 1978; MAHNEL, 1983, 1984).

WEUFFEN et al. (1972) lehnen den Begriff Luft- bzw. Raumluftdesinfektion als irreführend ab, da keine Desinfektion sondern nur eine Keimzahlreduzierung erreicht wird. Nach SCHLIESSER und STRAUCH (1981) werden bei einer effizienten Luftdesinfektion kontaminierte Oberflächen nur unbefriedigend desinfiziert. Sie verstehen unter dem Begriff der Raumluftdesinfektion die Vernichtung oder zahlenmäßige Verminderung der Luftkeime.

Grundsätzlich stehen für die Virusinaktivierung physikalische und chemische Verfahren zur Verfügung (HORN et al., 1972; WALLHÄUSSER, 1978; SCHLIESSER und STRAUCH, 1981; MAHNEL, 1983, 1984; ROLLE und MAYR, 1984).

P h y s i k a l i s c h e V e r f a h r e n

Viren lassen sich durch Wärme, mit Ausnahmen schon ab 60°C zuverlässig inaktivieren. Aber schon Temperaturen um 40°C (z.B. in der Sonne) wirken destabilisierend auf Viren, allerdings nur langsam. In der praktischen Anwendung werden die für die Desinfektion notwendigen Temperaturen durch Kochen, Dampfbehandlung, Hochdruckverfahren, Abflammen u.a. erreicht. Feuchte Hitze, wie z.B. Dampf, besitzt dabei eine größere Tiefenwirkung als trockene Hitze (MAHNEL, 1983, 1984).

UV-Strahlen, besonders mit einer Wellenlänge von 254 nm, inaktivieren Viruspartikel, indem sie neben anderen Virusbestandteilen vor allem die Virusnukleinsäure schädigen.

Der praktische Einsatz bei der Desinfektion beschränkt sich wegen der geringen Tiefenwirkung des UV-Lichtes auf Medien geringer Schichtdicke wie Luft, klares Wasser und auf glatte Oberflächen. Bei der Raumluftdesinfektion kommt dem UV-Licht allerdings große Bedeutung in Klinik und Labor zu (MAHNEL, 1984; OTTIS, 1976; v. BRODOROTTI und MAHNEL, 1982).

C h e m i s c h e V e r f a h r e n

Je nach ihrem Aufbau verhalten sich Viren gegenüber den verschiedenen chemischen Grundsubstanzen unterschiedlich resistent, eine hohe Tenazität besitzen die kleinen unbehüllten Enteroviren und Parvoviren (SPICHER, 1973; SCHLIESSER, 1974, 1975; MAHNEL und HERLYN, 1976; MAHNEL, 1979, 1984).

Grundsubstanzen chemischer Desinfektionsmittel:

- Säuren (z.B. Salzsäure);
- Alkalien (z.B. Natronlauge und Ätzkalk);
- Halogene (z.B. Chlor, Chlorkalk, Jod);
- Schwermetalle und ihre Salze (z.B. Sublimat);
- Oxydierende Substanzen (z.B. Ozon, Kaliumpermanganat);
- Alkohole;
- Aldehyde (z.B. Formalin);
- Phenol und Phenol Derivate (z.B. Kresol, Carbonsäure);
- Quarternäre Ammoniumverbindungen (Quats);

(aus: ROLLE und MAYR, 1984).

2.3.1. Viruzide Gase

Die Desinfektion durch das Ausbringen geeigneter Mittel als Gase erfordert einen hohen technischen Aufwand und besondere Fachkenntnis eines geschulten Personals. Die Effizienz wird stark von der Konzentration, der Temperatur, der Luftfeuchte und dem Luftwechsel beeinflusst (SCHLIESSER und STRAUCH, 1981).

Nach THIEL (1977) hängt der Erfolg einer Desinfektion mittels Gasen von der Luftfeuchte und der Temperatur ab, allerdings muß ein Raum gut abgedichtet und vorher gründlich gereinigt sein.

F o r m a l d e h y d g a s

Formaldehyd, freigesetzt durch Verdampfen von Formalin oder durch Erhitzen von Paraformaldehyd, wirkt zwar sicher viruzid, vermag aber nur bei einer hohen relativen Luftfeuchtigkeit nach einer sehr langen Einwirkungsdauer (mind. 6 Stunden) befriedigende Ergebnisse zu liefern (SCHLIESSER, 1986). Die Wirkung auf Mikroorganismen, die in Blut, Eiter, Kot, Speichel oder Schmutz inokuliert sind, ist gering (HEMANN, 1972; SCHLIESSER und STRAUCH, 1981; DIETZ et al., 1980; MAHNEL, 1983).

Formaldehyd reagiert mit freien Aminogruppen von Proteinen und besitzt dadurch denaturierende und adstringierende Wirkung. Allerdings reizt Formaldehydgas die Schleimhäute, insbesondere der Augen und Atemwege (FORTH et al., 1980).

T r i ä t h y l e n g l y k o l

Für einen optimalen viruziden Effekt des verdampften Tri-äthylenglykol (0,01mg/l Luft) muß eine relative Luftfeuchte von ca. 40 % herrschen. Die Keime werden nur dann inaktiviert, wenn sie von einer Wasserhülle umgeben sind, in der sich der mehrwertige Alkohol lösen kann (LAWRENCE und BLOCK, 1968; FORTH et al., 1980; SCHLIESSER und STRAUCH, 1981). Tri-äthylenglykol soll in Aerosol- oder Dampfform auch bei länger dauernder Exposition zu keinen pathologisch anatomisch greifbaren Veränderungen der inneren Organe führen (FRIEDEMANN und TREUHOFF, 1972), der MAK-Wert ist in der Bundesrepublik auf 0,006 mg/l Luft festgesetzt.

Äthylenoxid

Obwohl Äthylenoxid gute mikrobizide Eigenschaften besitzt, ist es wegen seiner Toxizität und Explosivität nicht zur Raumdeseinfektion geeignet (SCHLIESSER und STRAUCH, 1981). Mit CO_2 wird versucht, die Explosionsgefahr zu mindern.

β - Propiolacton

Wegen seiner toxischen, kancerogenen und mutagenen Eigenschaften kommt β - Propiolacton heute nicht mehr zum praktischen Einsatz (SCHLIESSER und STRAUCH, 1981).

2.3.2. Viruzide Aerosole

Zur Desinfektion von geschlossenen Räumen können flüssige Wirkstoffe auch als Aerosole ausgebracht werden. Die in der Luft verteilten kleinen Flüssigkeitströpfchen ($\varnothing$ 0,5 - 10 μm) bewirken eine erhebliche Oberflächenvergrößerung, eine große Luft - Wasser - Wechselbeziehung und damit eine größere Wirksamkeit; der Desinfektionsmittelverbrauch kann somit gesenkt werden (TROUWBORST et al., 1974; NICKLAS und BÖHM, 1981; SCHLIESSER und STRAUCH, 1981).

Um aerogene Krankheitserreger in geschlossenen Räumen mit Desinfektionsmittelaerosolen inaktivieren zu können, muß ein ausreichend lange dauernder Schwebezustand der Flüssigkeitströpfchen (1 - 3 Stunden) erreicht werden. Durch Koagulations-, Sedimentations- und Verdampfungsvorgänge verhalten sich Aerosole nicht wie "stabile Nebel", sondern sind hinsichtlich der Dispersität ständigen Veränderungen ausgesetzt (JARNYCH, 1976; SCHLIESSER und STRAUCH, 1981).

JARNYCH (1976) verweist auf zwei weitere für die praktische Aerosoldeseinfektion bedeutsame Effekte, nämlich die Photo- und die Thermophorese.

Während ein lichtabsorbierendes Aerosolpartikelchen auf der dem Licht zugewandten Seite erwärmt wird, bündelt dagegen ein lichtdurchlässiges Teilchen die Lichtstrahlen, so daß hierdurch die Luft auf der dem Licht abgewandten Seite erwärmt wird. Die angeregten Gasmoleküle verleihen den Aerosolteilchen Impulse entsprechend deren physikalisch-optischen Eigenschaften, so daß sie entweder auf die Lichtquelle zu oder von ihr wegwandern (= Photophorese).

Entsprechend wandern Aerosolpartikel immer entlang des Temperaturgradienten in Richtung der niedrigeren Temperatur, da bei der höheren Temperatur die Gasmoleküle stärker auf die Teilchen prallen und ihnen so Impulse in entgegengesetzter Richtung verleihen (= Thermophorese).

Wie bei der Gasdesinfektion müssen Räume gut abgedichtet werden. Die Aerosoldesinfektion in Gegenwart der Tiere ist sehr problematisch (MAYR, 1983), nach SCHLIESSER und STRAUCH (1981) kann hierzu nur eine 3 % ige Wasserstoffperoxid-Lösung, eine Na-Hypochlorit- und Na-Dichlorisocyanurat-Lösung mit einem Chlorgehalt von mindestens 1,5 - 2 %, eine 40 % ige Milchsäurelösung sowie Triäthylenglykol und Hexylresorcin verwendet werden.

A l d e h y d e

Die viruzide Eigenschaft von 2 % igen Formalinaerosolen beschreiben DEUTSCH und ROHR (1955). Bakteriophagen werden in kurzer Zeit inaktiviert. Bringt man Formalin als Aerosol aus, z.B. zur Reduzierung von stallenzootisch auftretenden Erkrankungen des Respirations- und Digestionstraktes, kann der Wirkstoffverbrauch bei voller Viruzidie gesenkt werden (TRENNER et al., 1977).

Formalin wirkt zwar sehr langsam, inaktiviert aber alle Keime, außerdem ist es umweltneutral und abbaubar (SPICHER und PETERS, 1976; KÖSTERS et al., 1980; MAHNEL, 1984).

Dagegen weist GRUND (1971) darauf hin, daß eine Inhalation von Formaldehydaerosolen durch Menschen und Tieren zu einer Vergiftung und zur Ausbildung eines Lungenödems führt. Die Eiweißdenaturierung kann vor allem die Schleimhäute des Respirationstraktes schädigen und zur Anosmie führen.

Nach Berichten der DEUTSCHEN LUFTHANSA (1975) wurde mit Formaldehydaerosolen ein Flugzeug desinfiziert (Lassafieber), nennenswerte Schäden an Geräten und Instrumenten wurden nach der Neutralisation des Formaldehyds mit Ammoniak nicht festgestellt. Allerdings mußte die Inneneinrichtung sowie der Teppichboden wegen des penetranten, stechenden Geruchs erneuert werden.

B - P r o p i o l a c t o n

SPINER und HOFFMANN (1960) halten B - Propiolacton Aerosole trotz ihrer kancerogenen und mutagenen Nebenwirkungen für geeignet zur Gebäudedesinfektion. Für einen sicheren Desinfektionserfolg muß allerdings eine relative Luftfeuchtigkeit von mindestens 70 % und eine Temperatur von mindestens 24°C herrschen.

O x y d a n t i e n

K a l i u m p e r m a n g a n a t

Kaliumpermanganat gibt leicht Sauerstoff an organische Stoffe ab, während es selbst zu Braunstein (Manganoxid) reduziert wird. Der abgespaltene oder naszierende Sauerstoff inaktiviert Bakteriophagen in Minuten, auch wenn Kaliumpermanganat nur als 0,2 oder 0,5 % ige Lösung in Aerosolform ausgebracht wird (DEUTSCH und ROHR, 1955).

Die viruzide Eigenschaft des Kaliumpermanganataerosols wird seit langem ausgenutzt (KUBELKA et al., 1958), allerdings setzen organische Verunreinigungen seine Desinfektionseffizienz erheblich herab. Als Nachteil ist weiter zu berücksichtigen, daß auch andere Materialien von dem naszierenden Sauerstoff angegriffen werden (MERKA, 1972).

W a s s e r s t o f f p e r o x i d

Als Aerosol (ϕ 1 - 20 μm) vernichtet Wasserstoffperoxid (5 - 20 mg/m^3) Grippevirus A₂ in 10 bis 20 Minuten, 3 % ige H₂O₂ Lösung inaktiviert als Aerosol durch Sonnenblumenöl geschütztes Myxovirus influenzae Typ A₂ innerhalb von 20 Minuten (MERKA, 1972). In dieser Konzentration ruft Wasserstoffperoxid Aerosol beim Inhalieren keine Schädigung der Schleimhäute des Respirationstraktes hervor (SCHLIESSER und STRAUCH, 1981). Deshalb kann dieser Wirkstoff (3 % ig) auch in Gegenwart von Mensch und Tier als Aerosol zur Desinfektion eingesetzt werden (TRENNER et al., 1977; MAYR, 1983).

Allerdings soll durch Wasserstoffperoxid die Korrosion verschiedenster Materialien, vor allem von Metallen, gefördert werden (NICKLAS und BÖHM, 1981). Nach DIETZ et al. (1980) führt eine 3 % ige H₂O₂ Lösung, ausgebracht als Aerosol, zu keinerlei Schäden oder Störungen von Taschenrechnern.

Die Viruzidie eines 3 % igen Wasserstoffperoxid Aerosols ist nach KÖSTERS et al. (1980) jedoch fraglich. Erst höher konzentriert (10 % ig) inaktiviert dieses Peroxid sicher Newcastle Disease-Virus, Stamm California, das auf verschiedenen Trägern angetrocknet war. Selbst die 10 % ige Lösung soll elektronische Anlagen nicht zerstören.

Bei Berührung mit organischem Material zerfällt Wasserstoffperoxid in Wasser und Sauerstoff, wobei keine schädigende Rückstände verbleiben (SCHLIESSER und STRAUCH, 1981).

P e r e s s i g s ä u r e

Viren werden durch Peressigsäure rasch inaktiviert, wenn sich deren Wirkung auch rasch verflüchtigt (SPRÖSSIG und MÜCKE, 1968; MERKA, 1972; TICHACEK, 1972; MAHNEL, 1984).

Die Aerosole der Peressigsäure besitzen einen durchdringenden, stechenden Geruch, reizen die Schleimhäute und führen vorübergehend zu Atembeschwerden (DIETZ et al., 1980).

In Anwesenheit der Tiere soll die Anwendung der Peressigsäure als Aerosol jedoch möglich sein, allerdings darf die Konzentration der Peressigsäure 2 % nicht übersteigen (TRENNER et al., 1977). Nach BUSCH und WERNER (1974) wird bei Schweinen, die der Peressigsäure ausgesetzt waren, das Retikuloendotheliale System der Lunge aktiviert. Kutan appliziert reagiert die Haut mit Schorfbildung, die sich histologisch als Hyper- und Parakeratose erweist. Auf Metalle und andere Materialien wirkt Peressigsäure sehr korrosiv (NICKLAS und BÖHM, 1981).

2.4. Vaccinia-Virus als Modell für Pockenviren

In der Familie Poxviridae sind die größten menschen- und tierpathogenen Viren (390 x 250 x 100 nm) zusammengefaßt, hinsichtlich ihrer Struktur und Funktion besitzen sie die höchste Organisationsform. Für Tiere und den Menschen pathogene Pockenviren wie Variola-, Vaccinia-, Kuh-, Büffel-, Affen-, Mäuse- und Elefantenpocken sind in das Genus Orthopoxvirus eingeordnet.

Die Basensequenzen ihrer DNS stimmen zwischen 30 und 100 % überein, genetische Rekombinationen sind möglich.

Das Vaccinia-Virus weist eine deutliche bis vollständige immunologische und teilweise serologische Verwandtschaft mit den anderen Vertretern des Genus Orthopoxvirus auf, alle Tiere sind empfänglich (HERRLICH et al., 1967; PÖHN und HEICKEN, 1967; MAYR et al., 1972; MAHNEL, 1974; MAYR, 1976; MATHEWS, 1982).

Hinsichtlich ihrer Tenazität gegenüber physikalischen und chemischen Einflüssen konnte KRAATZ (1984) keine Differenz zwischen den einzelnen Virusarten des Genus Orthopoxvirus feststellen.

Unabhängig davon, ob Pockenviren als Aerosol oder in ange-trocknetem Zustand vorliegen, treten die geringsten Verluste an infektiösem Virus bei einer geringen relativen Luftfeuchtigkeit und niedrigen Temperaturen auf.

Verglichen mit anderen behüllten Virusarten verhält sich das Vaccinia-Virus ausgesprochen stabil (v. SPROCKHOFF und MARSCHALL, 1984). So reduzierte sich der Virustiter des Vaccinia-Virus, das an Staub und Textilfasern angetrocknet war, bei einer Temperatur von 25°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 35 % in vier Wochen nur um 2 Zehnerpotenzen von 10^9 auf 10^7 KID₅₀/ml. Sogar bei einer höheren relativen Luftfeuchtigkeit verliert das Virus nur langsam an Infektiosität (SIDWELL et al., 1966).

Auch im Aerosol bleibt das Vaccinia-Virus bei niedrigen Temperaturen und geringen Luftfeuchten lange Zeit infektiös. Versetzt mit verschiedenen Stabilisatoren und gefriergetrocknet sollen im luftgetragenen Zustand auch bei einer Temperatur von 25°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 85 % nur sehr langsam Verluste an infektiösem Virus auftreten (ORLANDO und RILEY, 1968; HARPER, 1961).

Zellgebundenes bzw. in viskösen Medien suspendiertes Virus erweist sich deutlich stabiler als zellfreies oder in eiweißarmer Flüssigkeit aufgenommenes Virus. So behält Vaccinia-Virus in Impfpustelborken von Kindern und Kälbern bei Zimmertemperatur und diffusem Tageslicht noch 220 Tage seine Infektiosität (HERRLICH et al., 1967; KRAATZ, 1984).

2.5. Desinfektion von Pockenviren

Gemäß den Richtlinien der DVV (1982) und der DVG (1984) muß ein Desinfektionsmittel das Vaccinia-Virus, Stamm Elstree, inaktivieren, um als begrenzt viruzid zu gelten, d.h. es hat trotz Eiweißbelastung ein behülltes Virus zu inaktivieren. Das Vaccinia-Virus dient dabei als bekannt sehr stabiler Vertreter für andere behüllte Virusarten.

Pockenviren verhalten sich thermolabil, bei Temperaturen über 50°C werden sie unterschiedlich rasch in Minuten bis Stunden inaktiviert (FENNER, 1958; KAPLAN, 1958; MAHNEL, 1979). Die Inaktivierungsgeschwindigkeit hängt dabei nicht allein von der Temperatur, sondern auch von der Qualität des untersuchten Virusstammes ab. Außerdem ist die Thermostabilität auch davon abhängig, ob das Vaccinia-Virus zellgebunden (z.B. in Krusten oder Borken) oder aber zellfrei suspendiert sowie getrocknet vorliegt. So muß eine Temperatur von 90°C eine Stunde lang einwirken, um Vaccinia-Virus haltige Borkenstückchen zu inaktivieren (SCHÜMANN und GROSSGEBAUER, 1977).

Als weiteres physikalisches Mittel werden ionisierende (α , γ , Röntgen) und nicht ionisierende Strahlen, wie UV-Licht verwendet, um Vaccinia-Virus zu inaktivieren (v. BRODOROTTI, 1978; MAHNEL, 1979; MAHNEL et al., 1980). Nach v. BRODOROTTI und MAHNEL (1982) verhält sich Vaccinia-Virus jedoch trotz doppelsträngiger DNS außerordentlich labil gegenüber UV-Strahlen. Ursache hierfür ist, daß neben der Virusnukleinsäure noch andere Virusbestandteile des Vaccinia-Virus geschädigt werden (BOLING und RANDOLPH, 1977; v. BRODOROTTI, 1978; MAHNEL et al., 1980).

Bei der Virusinaktivierung mit chemischen Mitteln spielt der pH-Wert des umgebenden Milieus eine große Rolle, so wird das Vaccinia-Virus bei pH 3 destabilisiert (MAYR et al., 1982; ROLLE und MAYR, 1984).

Aldehyde verändern freie Aminogruppen und Säureamidgruppen der Virusproteine. Vaccinia-Virus verhält sich relativ labil gegenüber Formalin (0,5 - 2,0 % ig). Allerdings muß zellgebundenes Virus, z.B. in Borkenteilchen, einer höher konzentrierten Formalin-Lösung und länger dauernd ausgesetzt werden, um es zu erfassen (SCHÜMANN und GROSSGEBAUER, 1977; MAHNEL, 1983). So konnten PÖHN und HEICKEN (1967) Vaccinia-Virus haltige Borken mit einer 1,5 - 2,0 % igen Formalin-Lösung erst nach 2 - 4 Stunden inaktivieren.

Oxydantien, wie O z o n , W a s s e r s t o f f p e r - o x i d und P e r e s s i g s ä u r e greifen vor allem die Mercaptogruppen der Virusenzyme und anderer Virusproteine an oder oxidieren deren Sulfhydrylgruppen (MAHNEL, 1983). Pockenviren werden von einer 0,2 % igen Peressigsäure-Lösung in kürzester Zeit inaktiviert, als Aerosol ausgebracht ist die Desinfektionswirkung wesentlich effektiver. Für die rasche Inaktivierung des Vaccinia-Virus wird neben dem hohen Oxidationspotential der Peressigsäure der saure pH-Wert verantwortlich gemacht (TICHACEK, 1972). Die viruzide Wirkung von A l k a l i e n beruht auf der hydrolytischen Spaltung von Säureamiden (Proteindenaturierung) durch OH-Ionen. Vaccinia-Virus wird von Natronlauge in einer Konzentration von 0,3 - 0,5 % bei einer Temperatur von 8 - 10°C bereits nach einer Stunde Einwirkdauer inaktiviert (MAHNEL und HERLYN, 1976; SCHLIESSER und STRAUCH, 1981).

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Zellkulturen

Zur Virusvermehrung dienten in der Regel Primärkulturen aus embryonalen Rinderlungen (BEL), gewonnen aus Rinderembryonen nach der Methode von MADIN et al. (1957).

Für den Nachweis und die Titrierung des Virus wurden neben BEL-Zellen auch Subkulturen von Hühnerembryofibroblasten (HEF) verwendet, hergestellt nach der Methode von MAYR und KALCHER (1960) aus 10 - 11 Tage vorbebrüteten Hühnereiern, sowie bei Bedarf Kulturen der permanenten Zelllinien Vero und CV₁ (Affennierenzellen).

Das Medium für die Anzucht der BEL- und HEF - Kulturen sowie für die Zelllinien Vero und CV₁ war identisch:

Eagles Minimal Essential Medium (MEM) mit

- 1 % Natriumbicarbonat (8,8 % ig)
- 1 % Non Essential Amino Acids (NEAA)
- 5 % Fetales Rinderserum (FRS) bzw.
Neugeborenen Rinderserum (NRS)
- 100 I.E. Penicillin/ml
- 100 µg Streptomycin/ml

Das Erhaltungsmedium für die BEL-Kulturen und die Zelllinien enthielt nur 1 - 2 % FRS bzw. NRS. Für HEF-Kulturen wurde Rinderamnionflüssigkeit (RAF) mit Zusatz von 1,5 % Phenolrot und den oben genannten Antibiotika verwendet.

3.1.2. Virus

Als Modellvirus wurde ausschließlich das Vaccinia-Virus (Orthopoxvirus commune), Stamm Elstree, als Kulturvirus der 2. Passage in BEL-Kulturen verwendet. Es gehört zur Familie Poxviridae, Genus Orthopoxvirus, mißt ca. 270 x 360 nm, hat DNS und ist behüllt.

Das Vaccinia-Virus wurde in BEL-Zellkulturen vermehrt, die in Roux-Schalen dichtgewachsen waren. Nach Abgießen des Anzuchtmediums wurden pro Flasche 1 ml Saatvirus mit $10^{7,5}$ KID₅₀ zugesetzt und die Kulturen zunächst für ca. 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Anschließend wurden die Zellkulturen mit Erhaltungsmedium beschickt.

Die Kulturen wurden dann bei 37°C weiterbebrütet, bis sich ein cytopathischer Effekt (cpE) bei ca. 90 % der Kultur ausgebildet hatte. Ein Gefriertauen (- 70°C) schloß die Zellkulturen auf; die Virus - Zellsuspensionen wurden dann zwei Minuten mit Ultraschall bei 200 - 250 Watt pulsierend behandelt (Branson Sonifier B 12), und die Zelltrümmer anschließend durch Zentrifugation (10 Minuten bei 3000 UpM) entfernt. Der Überstand bildete die Virus-Stammsuspension und wurde portioniert bei - 70°C konserviert.

3.1.3. Qualitativer und quantitativer Virusnachweis

Der Nachweis des Vaccinia-Virus erfolgte anhand des spezifischen rasch fortschreitenden cytopathischen Effektes in subkultivierten BEL- oder HEF-Röhrchenkulturen bzw. Kulturen der Zelllinien Vero oder CV₁.

Beimpfte Röhrchenkulturen wurden am 2. Tag p. inf. kontrolliert und gegebenenfalls das Medium gewechselt. Die Endablesung (cpE) geschah bei BEL-Kulturen bereits am 2. - 3. Tag p. inf., bei Vero- und CV₁-Kulturen 1 - 2 Tage später. Die Ausbildung des cpE bei HEF-Röhrchenkulturen war verzögert, es wurde hier grundsätzlich erst am 6. Tag p. inf. abgelesen.

Der Virusgehalt der Stammsuspension und von Proben aus den Versuchen wurde über die Titrierung in Zehnerpotenzen ermittelt. Als Verdünnungsmittel diente vorgekühlte phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS). Pro Verdünnungsstufe wurden jeweils 4 Kulturröhrchen mit je 0,1 ml entsprechend verdünnter Virussuspension beimpft, der Virusgehalt bzw. Titer anhand des cpE nach SPAERMAN und KAERBER (1931) in KID_{50} pro ml (50 % kulturinfektiöse Dosis) berechnet. Bei dieser Methode der Virustitrierung und Berechnung liegt die untere Nachweisgrenze für den Virusgehalt bei $10^{0,5} KID_{50}/ml$ (- 0,5 KID_{50}/ml), in den Graphiken wurde sie als gestrichelte Linie eingezeichnet (- - -). Die Signifikanz der Virustiter liegt nach dieser Methode der Titrierung in 10 er Potenzen mit je 4 Reagenten bei $0,9 \log 10 KID_{50}$.

Der Nachweis von Vaccinia-Virus an Fadenträgern erfolgte auf entsprechende Art und Weise: Der Faden wurde zunächst von der jeweiligen Spule abgeschnitten, grob zerkleinert, in 3 ml MEM im Röhrchen aufgenommen und für ca. 30 Minuten im Kühlschrank eingeweicht. Durch eine pulsierende Ultraschallbehandlung ließ sich das Virus von den Fäden ablösen und in Suspension bringen. Anschließend wurde der Virusgehalt dieser Fadensuspensionen bestimmt.

Quantitativ wurde das Virus der Fadenträger bei der Rückisolierung (Volumen von aufgebrachter Virussuspension zu Volumen der Rückisolierungssuspension) im Verhältnis von etwa 1 : 100 verdünnt. Ca. 0,025 ml hafteten auf dem SERAFIL-Faden, der dann später in 3 ml MEM aufgenommen wurde. Beim SEIDE-Faden betrug das Verhältnis etwa 1 : 25.

3.1.4. Gase und Aerosole

Die verwendeten G a s e wurden Gasflaschen entnommen, als Vergleich und zur Kontrolle ein Versuch mit Preßluft durchgeführt.

Stickstoff

- Chemisches Element, Symbol N (Nitrogenium), Ordnungszahl 7, rel. Atommasse 14,0067;
- farb-, geruch- und geschmackloses, nicht brennbares Gas (N_2);
- Hauptbestandteil der Atmosphäre mit 78,1 Vol %.

Sauerstoff

- Chemisches Element, Symbol O (Oxygenium), Ordnungszahl 8, rel. Atommasse 15,9994;
- farb- und geruchloses, geschmackfreies Gas (O_2);
- Häufigstes aller chemischen Elemente auf der Erde;
- 20,93 % der Luft bestehen aus Sauerstoff.

Kohlendioxid

- Anhydrid der Kohlensäure, entsteht bei der vollständigen Verbrennung;
- farb-, geruch- und geschmackloses, nicht brennbares Gas (CO_2);
- Vorkommen in der Luft: 0,03 %, in der Ausatemungsluft 4,5 %.

Ammoniak

- Basische, stechend riechende, gasförmige Stickstoff-Wasserstoffverbindung (NH_3);
- in Wasser sehr gut löslich (1 m³ Wasser löst bei 20°C 700 m³ Ammoniak), entsteht u. a. bei der aeroben Zersetzung des Harnes;
- MAK - Wert: 0,005 Vol % $\hat{=}$ 50 ppm, Werte zwischen 500 und 1000 ppm wirken in kurzer Zeit tödlich. Empfohlene Toleranzdosis für Tiere: 10 ppm.

Die A e r o s o l e wurden mit dem Pari - Inhalierboy erzeugt. Als Kontrolle wurde steriles destilliertes Wasser verwendet.

Kaliumpermanganat (Kalii permanganas, DAB)

- Oxidationsmittel (KMnO_4), in Wasser gelöst tief violette Färbung;
- 0,1 N KMnO_4 Lösung enthält 3,16 g KMnO_4 /l.

Wasserstoffperoxid (Hydrogenii peroxidum, DAB)

- Oxidationsmittel (H_2O_2), als 30 % iges Perhydrol im Handel (Merck, Darmstadt);
- farblose, klare Flüssigkeit;
- Anwendung in der Medizin als 3 % ige Lösung, rel. instabil.

Formalin (Formaldehydi solutio, DAB)

- Als 35 % ige Formaldehydlösung im Handel (Merck, Darmstadt);
- offizinelles Desinfektionsmittel in 3 % iger wässriger Lösung;
- klare, farblose Flüssigkeit mit charakteristischem, stechen- dem Geruch, mischbar mit Wasser und Äthanol.

Alle Verdünnungen wurden mit sterilfiltriertem destilliertem Wasser hergestellt. Die Lösungen wurden stets zu Versuchbe- ginn frisch angesetzt.

3.1.5. Versuchsanordnung

3.1.5.1. Fadenträger

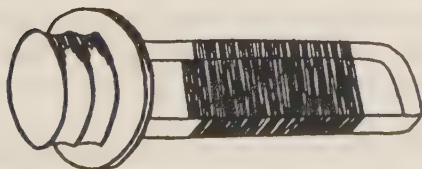
Für die Behandlungsversuche mit Gasen und Aerosolen wurden als Träger dünne Fäden, aufgewickelt auf Stahlrahmen (vgl. Abb. 1) verwendet.

1. SERAFIL-Faden: Er besteht aus Kunststoff; 2 Einzelstränge sind zu einem Faden verdreht, der einen Durchmesser von 0,2 bzw. 0,1 mm (Engstellen) aufweist. Jeder Einzelstrang besteht aus 20 Mikrofäden von je 15 μ m Durchmesser.
2. SEIDE-Faden: Er ist aus drei Einzelfäden reiner Seide gedreht und besitzt einen Durchmesser von 0,4 mm.

3 m dieser Fäden wurden jeweils auf einen Stahlrahmen (vgl. Abb. 1) aufgespult, was beim SERAFIL-Faden einem Gewicht von etwa 40 mg, beim SEIDE-Faden von 85 mg entspricht. Je vier dieser bespulten Stahlrahmen konnten in eine Versuchskammer eingebracht werden. Zur Abdichtung waren sie mit einem Dichtungsring aus Gummi an ihrem Stopfen versehen.

Abbildung 1: Trägerspule mit aufgewickeltem Faden von 3 m Länge

Maße des Stahlrahmens: 9 x 2 cm,
Stärke des Stahls: 2,5 x 0,5 mm.



Die Stahlrahmen mit den aufgespulten Fäden wurden durch Auskochen und einer anschließenden einstündigen UV-Bestrahlung (unter dem Laminar Flow einer Biologischen Sicherheitskabine) entkeimt und gleichzeitig getrocknet.

Mittels einer Pasteurpipette wurde dann Virussuspension aufgetragen, bis sich auf jeder Seite der Spule ein durchgehender Flüssigkeitsfilm gebildet hatte. Überschüssige, nicht haftende Suspension ließ sich mit der Pasteurpipette wieder absaugen. Anschließend wurden die virusbefilmten Fäden im Luftstrom einer Biologischen Sicherheitskabine getrocknet.

An drei Metern des aufgewickelten SERAFIL-Fadens hafteten ca. 20 - 30 mg Virussuspension (0,025 ml). Nach dem Trocknen betrug die Gewichts Differenz zwischen beschicktem und rohem Faden ca. 5 mg.

An drei Metern aufgespultem SEIDE-Faden hafteten etwa 80 - 100 mg Virussuspension (ca. 0,07 ml). Nach dem Antrocknen betrug die Gewichts Differenz ca. 9 - 12 mg zum unbeschickten Faden.

3.1.5.2. Versuchskammer (Abb. 2, S. 31)

Es wurden zwei identische, aus 1 cm starkem Plexiglas gefertigte, quaderförmige Kammern verwendet (vgl. Abb. 2). Die Innenabmessungen der Kammern betrugen 30 cm (Länge) x 10 cm (Höhe) x 4 cm (Breite). Die Kammern waren nach außen gasfest abgedichtet.

In die Oberseite einer Kammer waren vier runde Öffnungen mit einem Durchmesser von 3 cm zum Einsatz der Spulen eingepaßt. Außerdem befanden sich an der Oberseite zwei Bohrungen von 1,5 cm Durchmesser für die Aufnahme von Meßsonden zwecks Messung der relativen Luftfeuchtigkeit, der Temperatur und des pH Wertes.

An der Vorder- und Hinterseite der Kammern befand sich jeweils ein Stutzen für Zu- und Abluft (Durchmesser 1,5 cm).

Alle während eines Versuches nicht benötigten Öffnungen wurden mit Gummistopfen dicht verschlossen.

Vor jedem Versuch wurde die Kammer mit einer 5 % igen Formalinlösung beschickt, anschließend mehrmals mit sterilem Wasser ausgespült und geöffnet über Nacht unter der Biologischen Sicherheitskabine getrocknet. Der stechende Formalingeruch war dann verflogen.

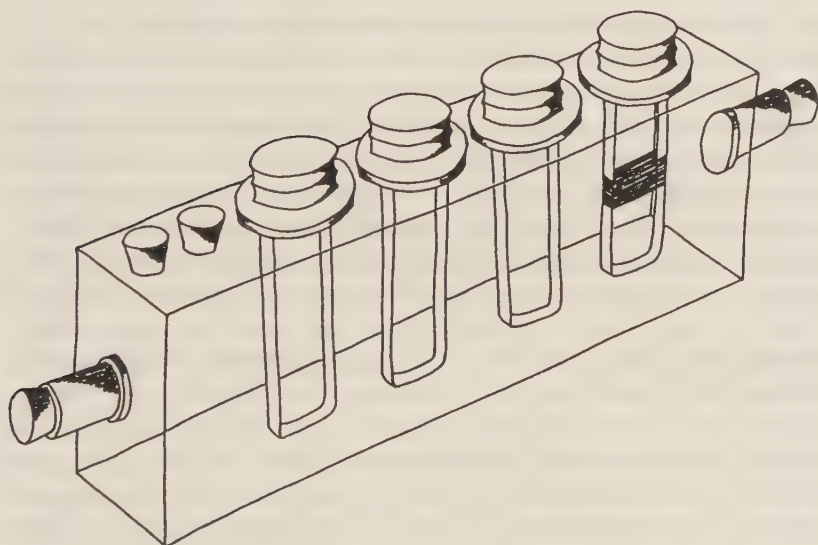


Abbildung 2: Versuchskammer aus Plexiglas

Abmessungen innen: 30 x 10 x 4 cm

Öffnungen der Oberseite: $\varnothing$ 3 cm und $\varnothing$ 1,5 cm

Zu- und Abluftstutzen: $\varnothing$ 1,5 cm

3.1.5.3. Begasung der Träger (Abb. 3, S. 34)

Die verschiedenen Gase - Sauerstoff, Stickstoff, Kohlendioxid und Ammoniak - wurden Gasflaschen entnommen. Mit dem Reduzierventil an der jeweiligen Gasflasche wurde der Gasdurchfluß gesteuert. Über einen Gummischlauch strömten die Gase durch ein Filter, dem ein Durchflußmesser vorgeschaltet war. Das Gas wurde anschließend in einen Zylinder mit verschiedenen gesättigten Salzlösungen über einen Sprudelstein eingeleitet, um die relative Luftfeuchtigkeit einzustellen (WEXLER und HASEGAWA, 1954; GRÖNING und MÜLLER, 1980).

Die relative Luftfeuchtigkeit von ca. 90 %, abhängig von der jeweiligen Temperatur, wurde mittels einer gesättigten Kaliumnitratlösung (KNO_3), 65 % relative Luftfeuchte mit einer gesättigten Ammoniumnitratlösung (NH_4NO_3) erreicht (Angaben aus GRÖNING und MÜLLER, 1980, S. 14: Auszug aus VALVO Technische Informationen Nr. 790 423). Lediglich bei dem Versuch mit Ammoniak konnte die Luftfeuchte nicht reguliert werden, da sich Ammoniak (NH_3) in Wasser löste und Salmiakgeist entstand.

Anschließend wurde das Gas in die Trägerkammer eingeleitet. Nachdem das jeweilige Gas die Kammer eine Stunde lang durchströmt hatte, erfolgten die Messungen der relativen Luftfeuchtigkeit mittels eines Psychrometers (THERM 2246 mit dem psychrometrischen Meßwertgeber C 845, Ahlborn Meß- und Regelungstechnik, Holzkirchen b. München) in Prozent (%) und der Temperatur mit Hilfe eines Thermometers, das fest in die Kammer installiert war. Erst dann wurden die präparierten Spulen in die Kammer eingesetzt.

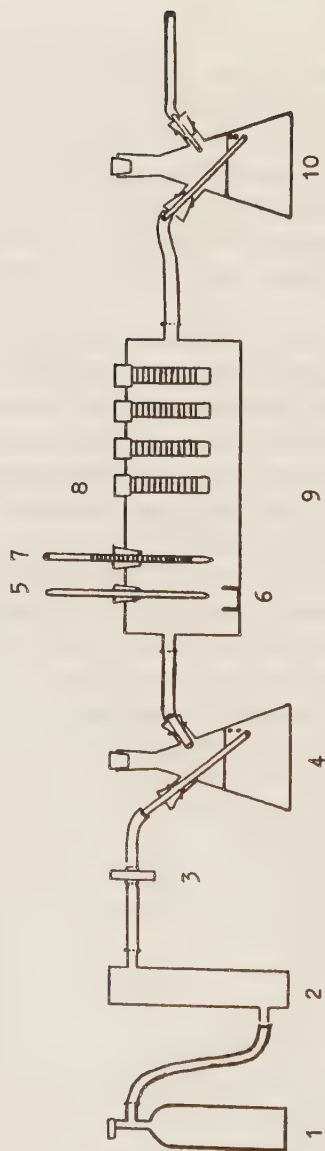
Mit Versuchsbeginn wurde ferner ein Glasgefäß mit 10 ml destilliertem Wasser, genau auf den Neutralpunkt eingestellt, in die Kammer eingebracht. Während der Versuche wurde der pH-Wert mittels eines pH-Meters (Beckmann Digital Modell 3500) über eine Elektrode, die in das Gefäß eingetaucht wurde, gemessen. Dies erfolgte über dieselbe Öffnung, die zur Kontrolle der relativen Luftfeuchte benutzt wurde.

Temperatur, pH-Wert und relative Luftfeuchte wurden jeweils bei Beginn eines Versuches, eine Stunde später und jedesmal vor Entfernen der begasten Spule bestimmt und dokumentiert.

Aus der Kammer strömte das Gas durch eine 0,5 % ige Formalinlösung in einem Glaskolben. Hierdurch wurden Viren, die sich eventuell mit dem Gasstrom von den Fäden lösten, inaktiviert. Über einen langen Schlauch gelangte das Gas schließlich durch ein Fenster ins Freie.

In den Versuchen mit Ammoniak, das in hohen Konzentrationen toxisch und ätzend wirkt, wurde das Gas aus der Flasche heraus direkt in die Kammer geleitet. Die relative Luftfeuchte konnte ohnehin nicht eingestellt werden, da sich der Ammoniak in der gesättigten Salzlösung löste. Die Spulen wurden hier vor dem Öffnen der Ammoniak-Flasche in die Kammer eingesetzt. Um die Umwelt und das Laborpersonal zu schützen, wurde Ammoniak nur für 10 Minuten eingeleitet, dann die Kammer mit Gummistopfen dicht verschlossen. Nach jeder Öffnung der Kammer, z.B. Entnahme einer behandelten Spule oder bei einer Messung, wurde wieder für 10 Minuten begast und die Kammer dann verschlossen.

Abbildung 3: Schema der Versuchsanordnung bei der Begasung



- 1 Gasflasche
- 2 Durchflußmesser
- 3 Filter
- 4 Gasflasche
- 5 Durchflußmesser
- 6 Filter
- 7 Gasflasche
- 8 Durchflußmesser
- 9 Versuchskammer
- 10 Desinfektion

3.1.5.4. Behandlung der Träger mit Aerosolen (Abb. 4, S. 37)

Aerosole von Wasserstoffperoxid, Kaliumpermanganat und Formalin wurden durch einen PARI Inhalierboy (Paul Ritzau PARI-Werk GmbH, Starnberg) erzeugt. Der Tröpfchendurchmesser bewegt sich bei diesem Gerät nach Angaben des Herstellers zwischen 0,5 und 5,5 μm . Die Verneblerdüse wurde der Behandlungskammer direkt vorgeschaltet, um die Aerosole auf kürzestem Wege in die Kammer zu bringen. Ein Konfluieren und Sedimentieren der Nebeltröpfchen schon vor der Kammer wurde so vermieden.

Benutzt wurden die gleichen Kammern wie in den Begasungsversuchen. Die mit Virussuspension beschickten Spulen wurden 5, 15 und 30 Minuten nach Versuchsbeginn jeweils entnommen und die entsprechende Öffnung der Kammer mit einem Gummistopfen sofort wieder dicht verschlossen.

Die mit Aerosol behandelten Fäden wurden sofort nach der Entnahme in 3 ml MEM suspendiert, um zu vermeiden, daß Aerosoltröpfchen auf den Fäden noch weiter auf das Trägervirus einwirken. Zu Versuchsbeginn und jeweils bei Entnahme einer Spule wurden wie immer Temperatur, relative Luftfeuchte sowie der pH-Wert bestimmt.

Um ein gleichmäßiges Durchströmen der Kammer durch die Aerosole zu erreichen, wurde eine Saugpumpe nachgeschaltet. Die Spulen ließen sich dadurch gleichmäßig benetzen, obwohl sie unterschiedlich weit von der Aerosolquelle entfernt eingebracht waren. Zwischen die Absaugpumpe und die Kammer war noch eine Flasche mit einer 0,5 % igen Formalinlösung geschaltet, um eventuell abgesaugtes Virus zu inaktivieren. Der Luft - Aerosolstrom wurde anschließend über einen Schlauch ins Freie geführt. In 30 Minuten wurden ca. 12 ml der jeweiligen Lösung als Aerosol durch die Kammer geleitet.

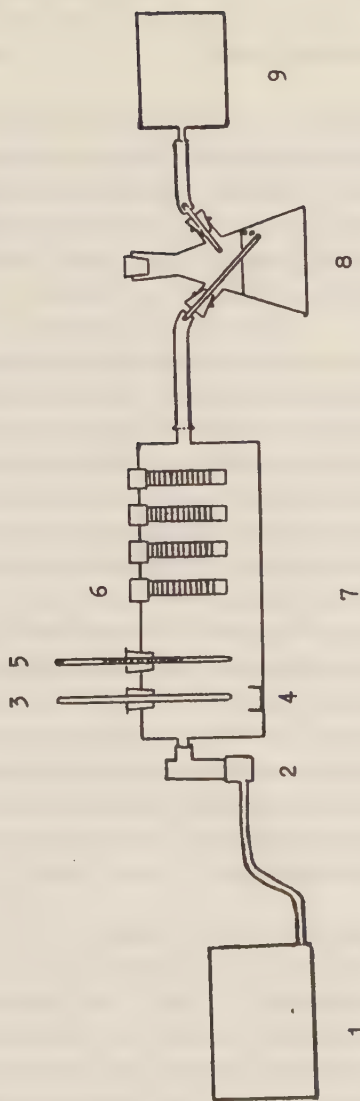
In den Aerosolversuchen bildeten sich bereits kurze Zeit nach Versuchsbeginn mit bloßem Auge sichtbare Flüssigkeitströpfchen auf den Trägerfäden und dem Boden der Kammer. Die Fäden wirkten dabei als Kondensationskerne.

Um zwischen der echten Inaktivierung des Vaccinia-Virus und eventuellen Verlusten durch das Abtropfen kondensierter Flüssigkeit von den Fäden unterscheiden zu können, wurde zu jedem Versuch eine Kontrolle durchgeführt. 30 Minuten wurde steriles destilliertes Wasser als Aerosol in die Kammer mit einer Virus beschickten Spule eingeleitet und anschließend wie beschrieben der Virusgehalt des Fadens bestimmt.

Um schließlich zu verhindern, daß sich auf den Trägerfäden zuviel Aerosol als Flüssigkeit niederschlug und Virus abspülte, wurde jeweils nur eine Minute lang Aerosol in die Kammer eingeleitet und anschließend das Aerosolgerät und die Saugpumpe abgeschaltet. Fünf Minuten nach Versuchsbeginn wurde die erste Spule entnommen, dann wieder für eine Minute Aerosol durch die Kammer geleitet und nach 15 sowie 30 Minuten in gleicher Weise verfahren. Die dritte (letzte) Spule wurde also dreimal für je eine Minute dem frischen Aerosol ausgesetzt (Abb. 6, S. 60).

Obwohl bei dieser Variante in der Versuchsanordnung die Aerosole nicht mehr an den Fäden als Kondensationskerne konfluieren, wurde zu jedem Versuch eine Kontrolle mit sterilfiltriertem Wasser durchgeführt.

Abbildung 4: Schema der Versuchsanordnung bei der Aerosolbehandlung



- 1 Aerosolgerät
- 2 Verneblerdüse
- 3 Psychrometer / pH-Meter
- 4 Glasgefäß für Wasser mit neutralem pH
- 5 Thermometer
- 6 Spulen
- 7 Versuchskammer
- 8 Desinfektion / Neutralisation
- 9 Saugpumpe

3.2. Versuche und Ergebnisse

3.2.1. Problematik der Versuchsanordnung

Bei der Verbreitung durch die Luft, im luftgetragenen Zustand, liegen die Viren nicht als einzelne Makromoleküle vor, sondern werden adsorbiert an diverse größere Partikel getragen (HILBIG und HILLIGER, 1973; MÜLLER et al., 1978; LUTZ, 1983; MAHNEL, 1983; KAADEN, 1985). Nach LUTZ (1983) überwiegen dabei Teilchen mit einer Größe von 10 μm .

Betrachtet man die Erregerausscheidung durch Mensch und Tier, so finden sich eine Vielzahl von möglichen Trägerteilchen: Flüssigkeitströpfchen (Sekrete und Exkrete, Exsudate), Borken- und Krustenteilchen, Hautabschilferungen, Kotbestandteile usw.

Eine Versuchsanordnung für Viren muß diese natürlichen Gegebenheiten für Viren im luftgetragenen Zustand nachahmen. Gleichzeitig sollte die Methodik gewährleisten, daß das Virus an möglichst feinen Trägern angetrocknet haftend dem Strom von Gasen bzw. Aerosolen ausgesetzt werden kann und so getragen in der Schwebe bleibt.

TROUWBORST et al. (1972) konnten bei der Inaktivierung von Bakteriophagen mit Aerosolen nur schwer reproduzierbare Ergebnisse erzielen. Die Inaktivierungsrate hing stark von der Salzlösung ab, mit der das Virus vernebelt wurde, und wie die Aerosolproben wieder gesammelt wurden.

MAY und DRUETT (1968) entwickelten das sogenannte Mikrothread-Verfahren. Sie überprüften damit das Überleben von Bakterien, die sie auf Spinnenfäden aufgebracht hatten. Das Mikrothread-Verfahren simulierte ein gebundenes Aerosol und ermöglichte es, einerseits genau bemessene Bakterienmengen auf einen sterilen Träger aufzubringen, andererseits die Umweltbedingungen wie Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit beliebig zu variieren.

Gase und Aerosole (NICKLAS und BUSSE, 1982) konnten so auf ihre desinfizierende Wirksamkeit für Luftkeime untersucht werden.

Der Fadenträger mußte biologisch inaktiv und untoxisch, dabei steril, zudem aber auch leicht handhabbar und genormt aufspulbar sein. Er sollte gleichzeitig einen möglichst geringen Durchmesser bei ausreichender Stabilität besitzen. MAY und DRUETT (1968) verwendeten deshalb wie später auch NICKLAS und BUSSE (1982) die Fluchtfäden junger Gartenkreuzspinnen (*Araneus diadematus*) als Träger.

Das Mikrothread-Verfahren war zur Nachahmung des luftgetragenen Zustandes der Mikroorganismen bestens geeignet. Die Antrocknung und Haftung der Keime an den Faden verhinderte ein zu schnelles Absinken der Bakterien aus dem Schwebezustand; daneben können sämtliche Versuchsparameter kontrolliert bzw. eingestellt werden. Die Versuche und Ergebnisse werden deshalb gut reproduzierbar.

Während es relativ einfach war, für bakterielle Keime einen Träger (Spinnenfäden) mit kleinerem Durchmesser als dem der Mikroorganismen zu finden, sind die Trägerpartikel für Viren stets mehrfach größer. Als praktikable Lösung für Versuche mit Virusträgern erschienen die Benutzung von SEIDE-Fäden und eines SERAFIL-Fadens aus Kunststoff. Außer der Forderung des geringeren Durchmessers als der getragene Keim erfüllten diese Träger sämtliche Voraussetzungen nach MAY und DRUETT.

3.2.2. Vorversuche

In den Vorversuchen sollte ermittelt werden:

1. Auf welchem Faden - SEIDE oder SERAFIL - haftet das Virus am besten.
2. Treten Infektiositätsverluste auf:
 - a) beim Auftragen des Virus auf den Faden
 - b) beim Antrocknen des Virus an den Faden.

Virushaftung am Träger:

Die Virussuspension wurde auf die Fäden aufgetragen und abtropfende Flüssigkeit mit sterilem Löschpapier abgesaugt. Die noch feuchten Fäden wurden gleich anschließend von der Spule abgeschnitten, zerkleinert, in 3 ml MEM aufgenommen und nach der Aufbereitung der Virusgehalt bestimmt.

Antrocknung am Träger:

Virus wurde von Fäden rückisoliert, an die es eine Stunde lang unter dem Luftstrom einer Biologischen Sicherheitskabine bei Raumtemperatur angetrocknet worden war.

Der Virusgehalt der Fäden nach der jeweiligen Präparation mit Virus bezieht sich zunächst auf die Virusmenge an den Fäden (SERAFIL ca. 0,025 ml, SEIDE ca. 0,7 ml Virussuspension), aufgenommen in jeweils 3 ml Puffer. Für den Vergleich mit dem Virusgehalt der Ausgangs-Virussuspension (KID_{50} pro ml) ist der Wert beim SEIDE-Faden mit 25, beim SERAFIL-Faden mit 100 zu multiplizieren.

Um feststellen zu können, wieviel Virus an den Fäden haftete, wurde erstens der Virustiter der beschickten, noch feuchten Fäden mit dem der Stammsuspension, zweitens der Virustiter der getrockneten Fäden mit dem der Stammsuspension verglichen (Tabelle 1).

Tabelle 1: Präparation der Fäden, Rückgewinnung des Virus vom feuchten und getrockneten Faden.

+ Virustiter in $-\log 10 \text{ KID}_{50}/\text{ml}$

• Virusgehalt in $\log 10 \text{ KID}_{50}/\text{ml}$

Faden	Titer ⁺ des Stammvirus	Faden- zustand	Virusgehalt [•] des Fadens	Titer ⁺ nach Rückrechnung
SEIDE	7,25	feucht	6,0	ca. 7,25
"	7,0	"	5,5	ca. 6,75
"	7,0	getrocknet	4,75	ca. 6,0
SERAFIL	7,75	feucht	6,75	ca. 8,25
"	7,5	"	6,0	ca. 8,0
"	7,5	getrocknet	5,0	ca. 7,0

Rückrechnung für SEIDE: Fadentiter x 25

Rückrechnung für SERAFIL: Fadentiter x 100

Ergebnis:

Weder am SEIDE- noch am SERAFIL-Faden traten Infektiositätsverluste auf, wenn Vaccinia-Virus unmittelbar nach dem Benetzen der Fäden rückisoliert wurde.

Dagegen reduzierte sich durch die Antrocknung der reinen eiweißarmen Virussuspension beim SEIDE-Faden der Gehalt an infektiösem Virus um etwa eine Zehnerpotenz, das sind rund 90 %.

Im Bestreben, die Antrocknungsverluste zu reduzieren, wurden SEIDE-Fäden mit einer Virussuspension präpariert, der zur Virusstabilisierung 40 % FRS zugesetzt worden war.

Auch bei diesen Vorversuchen wurde Virus von noch feuchten und von getrockneten Fäden rückisoliert (Tabelle 2).

Tabelle 2: Beschickung des SEIDE-Fadens mit Virussuspension, der 40 % FRS zugesetzt wurde.

- + Virustiter in - log 10 KID₅₀/ml
- Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Titer ⁺ des Stammvirus	Fadenzustand	Virusgehalt [•] der Fäden	Titer ⁺ nach Rückrechnung (x 25)
7,0	feucht	5,5	6,75
7,5	feucht	5,5	6,75
7,75	feucht	7,0	8,25
7,5	getrocknet	6,25	7,5
7,75	getrocknet	6,75	8,0
7,0	getrocknet ^x	5,0	6,25
7,5	getrocknet ^x	5,0	6,25

x = getrocknet bei Raumtemperatur ohne Luftstrom

Ergebnis:

- Bei der raschen Antrocknung des Vaccinia-Virus unter dem Luftstrom einer Biologischen Sicherheitskabine (ca. 1 Std.) traten keine Verluste an Infektiosität auf, bei der langsameren Antrocknung ohne Luftstrom dagegen, trotz des FRS-Zusatzes, Titerverluste von etwa einer Zehnerpotenz.

Die Stabilisierung des Trägervirus durch Zusatz von FRS bei der Antrocknung wurde anschließend auch am SERAFIL-Faden geprüft (Tabelle 3).

Tabelle 3: SERAFIL - Faden beschickt mit einer Virus-suspension, der 40 % FRS zugesetzt wurde.

- + Virustiter in - log 10 KID₅₀/ml
- Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Titer ⁺ des Stammvirus	Fadenzustand	Virusgehalt [•] der Fäden	Titer ⁺ nach Rückrechnung (x 100)
7,75	feucht	6,25	8,25
7,5	feucht	5,75	7,75
7,5	feucht	5,75	7,75
7,25	feucht	5,25	7,25
6,5	feucht	4,75	6,75
6,75	feucht	4,75	6,75
6,75	feucht	5,75	7,75
6,75	feucht	5,25	7,25
7,5	getrocknet	5,5	7,5
6,75	getrocknet	4,75	6,75
7,5	getrocknet	5,5	7,5
7,5	getrocknet	5,75	7,75
7,25	getrocknet	5,25	7,25
6,5	getrocknet ^x	4,75	6,75
6,75	getrocknet	5,25	7,25
7,0	getrocknet ^x	5,0	7,0

x = getrocknet ohne Luftstrom bei Raumtemperatur

Ergebnis:

Das durch FRS stabilisierte Vaccinia-Virus überstand die Antrocknung an den SERAFIL-Fäden in allen Testen ohne signifikante Infektiositätsverluste.

Neben dem Zusatz von FRS als Stabilisierungsmittel zum Virus für die Träger, in erster Linie zur Vermeidung von Antrocknungsverlusten, galt es weitere stabilisierende Zusätze zum Virus zu erproben, die eine Stabilität nicht nur für die Trocknung, sondern auch möglichst lange danach - für die Versuchsphase - erbrachten. Mit Zusätzen wie Gummi arabicum und Polygeline wurden die Haftung des Virus an den Fäden und seine Stabilisierung zusätzlich geprüft (Tabelle 4).

Da in den ersten Versuchen durch das Benetzen der Fadenträger allein (feuchter Faden) keine Virusverluste feststellbar waren, wurde in den folgenden Versuchen darauf verzichtet, den Virusgehalt der Fäden nach der Befeuchtung zu bestimmen.

Tabelle 4: Präparation von SERAFIL - Fäden mit Virussuspension und stabilisierenden Zusätzen zum Vaccinia-Virus.

+ Virustiter in - log 10 KID₅₀/ml

• Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Medium- zusatz	Titer ⁺ des Stammvirus	Virusgehalt [•] am Faden nach Trocknung	Titer ⁺ nach Rück- rechnung (x 100)
GA 10 %	7,0	3,0	5,0
GA 25 %	7,5	4,75	6,75
PG 25 %	7,5	4,75	6,75
"	7,5	5,0	7,0
"	7,0	5,5	7,5
"	7,0	5,0	7,0
"	6,75	4,75	6,75
"	7,5	5,75	7,75

GA = Gummi arabicum

PG = Polygeline

Ergebnis:

Der Zusatz von Gummi arabicum vermochte nicht das Vaccinia-Virus ausreichend zu stabilisieren, bei der Antrocknung traten deutliche Virusverluste auf.

Dagegen haftete mit Polygeline versetztes Vaccinia-Virus gut und überstand die Antrocknung ohne Verluste.

In einem anschließenden Vorversuch wurde die Technik der Fadenbeschickung mit Virus variiert, mit dem Ziel, die gleichmäßige gute Virushaftung zu verbessern.

In einem ersten Schritt wurden die Fäden - SEIDE und SERAFIL - mit FRS, Tylose-, Gummi arabicum- oder Polygeline-Lösung befeuchtet. Dann wurden in einem zweiten Schritt die eiweißarme Virus-Stammsuspension (ohne Zusatz) aufgetragen, und überschüssige Flüssigkeit mit sterilem Löschpapier abgesaugt. Anschließend wurden die Spulen mit den virusbeschickten Fäden wie üblich unter dem Laminarstrom einer Biologischen Sicherheitskabine getrocknet. Die Ergebnisse der Auswertung sind in Tabelle 5 zusammengefaßt.

Ergebnis:

Die Präparation der Trägerfäden in zwei Schritten verbesserte die Ergebnisse nach der Antrocknung nicht gegenüber den vorangegangenen Versuchen, jedoch vermochte auch hier nur 25 % ige Polygeline-Lösung das Virus fast optimal zu stabilisieren.

Tabelle 5: Präparation von Vaccinia-Virus auf SEIDE - bzw. SERAFIL - Fäden, zuvor befeuchtet mit stabilisierenden (klebrigen) Medien.

+ Virustiter in - log 10 KID₅₀/ml

• Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Faden- art	Medium	Titer ⁺ des Stammvirus	Virusgehalt [•] am Faden nach Trocknung	Titer ⁺ nach Rückrechnung
SEIDE	PG 25 %	7,75	6,0	7,25
"	"	7,25	5,0	6,25
"	"	7,25	5,0	6,25
"	"	7,25	5,75	7,0
SERAFIL	GA 25 %	7,75	5,0	7,0
"	"	7,75	4,75	6,75
"	TY 25 %	7,75	5,0	7,0
"	"	7,75	4,5	6,5
"	PG 25 %	7,75	5,0	7,0
"	"	7,75	5,0	7,0
"	"	6,75	5,0	7,0
"	"	6,75	4,75	6,75

PG = Polygeline - Lösung

GA = Gummi arabicum - Lösung

TY = Tylose - Lösung

In allen Vorversuchen verhielt sich das Vaccinia-Virus trotz unterschiedlicher Zusätze am SERAFIL-Faden stabiler, die Ergebnisse waren besser reproduzierbar als an SEIDE.

In allen folgenden Versuchen wurde deshalb nur noch mit SERAFIL-Fäden gearbeitet, da sich dieser Faden in seiner Struktur und seinen Trägereigenschaften für die Simulation eines Virusaerosols als besser geeignet erwiesen hatte.

3.2.3. Stabilität des angetrockneten Virus

Vor Beginn der Hauptversuche war noch zu kontrollieren, ob und wie lange auf den Fadenträgern angetrocknetes Virus unter den Bedingungen der Versuchsanordnung seine Infektiosität behält bzw. verliert.

Mit Virus präparierte Faden-Spulen wurden für die abgeschätzte Laufzeit der Versuche (1 - 2 Tage) in der verschlossenen Versuchskammer aufbewahrt. In der Kammer herrschte Raumklima.

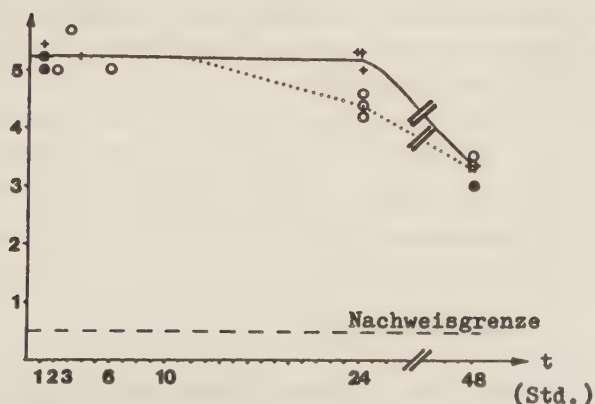
Über 48 Stunden wurden in Abständen Fäden entnommen und deren Virusgehalt bestimmt (Abb. 5).

Angetrocknetes Vaccinia-Virus, dem 40 % FRS zugesetzt worden war, verlor nach 24 Stunden etwa 90 % (eine Zehnerpotenz) an Infektiosität.

Virus, mit Zusatz von 25 % Polygelatine jedoch verhielt sich bis zu 24 Stunden befriedigend stabil. Anschließend traten aber auch hier signifikante Verluste im Virusgehalt auf.

Abbildung 5: Graphische Darstellung der Stabilität des angetrockneten Vaccinia-Virus

$\log_{10} \text{KID}_{50}$
pro Faden



+ ——— Vaccinia-Virus und 25 % Polygelatine
o Vaccinia-Virus und 40 % FRS

3.2.4. Hauptversuche

3.2.4.1. Einfluß umweltneutraler Gase auf trägergebundenes Virus

Die mit 3 m SERAFIL - Faden bespannten Stahlspulen wurden mit Vaccinia-Virussuspension beschickt, der 25 % Polygelatine zur Stabilisierung zugesetzt worden war.

Das Virus trocknete eine Stunde lang unter dem Luftstrom einer Biologischen Sicherheitskabine bei Raumtemperatur an. In dieser Zeit wurde bereits Gas durch die noch leere Begasungskammer geleitet und die gewünschte relative Luftfeuchtigkeit eingestellt.

Anschließend wurden die präparierten Spulen durch die dafür vorgesehenen Öffnungen in die Kammer eingebracht.

Jeder begasten Spule lief eine Kontrolle parallel. Die Virustiter der ausgewerteten Fadenträger sind bei allen Versuchsergebnissen in $\log 10 \text{ KID}_{50}$ pro Faden angegeben. Bei einer Umrechnung des Virusgehaltes pro Faden auf Milliliter sind die angegebenen Werte mit 100 (SERAFIL - Faden) zu multiplizieren (siehe 3.2.2., Seite 40).

Die verschiedenen Gase wurden in folgender Reihenfolge bei unterschiedlicher relativer Luftfeuchtigkeit auf ihre virulente Wirkung untersucht:

1. Preßluft
2. Stickstoff
3. Sauerstoff
4. Kohlendioxid
5. Ammoniak

Die Versuche mit Preßluft dienten dem Vergleich bzw. als Kontrolle zu den Untersuchungen mit den anderen Gasen.

Preßluft

Die Begasung des Trägervirus mit Preßluft diente der Kontrolle. Während der Versuchsdauer wurde die relative Luftfeuchte mit gesättigten Salzlösungen bei 85 - 90 % (Tabelle 6 a) und bei 55 - 60 % (Tabelle 6 b) eingestellt, die Temperatur und der pH-Wert lediglich gemessen und dokumentiert.

Tabelle 6 a: Relative Luftfeuchtigkeit: 85 - 90 %
- Temperatur in der Kammer: $\varnothing$ 25,2°C
- Gasdurchfluß: ca. 14 l pro Stunde
- Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Begasung Stunden	pH-Wert	Virusgehalt pro Fadenträger	
		nach Begasung	Kontrolle
0	7,0	---	4,25
2	6,9	4,25	4,5
4	6,9	4,0	4,25
18	6,7	4,0	4,25
18	6,8	4,25	4,25
18	6,7	4,0	4,0

Virus-Nachweissystem: BEL-Kulturen

Tabelle 6 b: Relative Luftfeuchtigkeit: 55 - 60 %

- Temperatur in der Kammer: $\varnothing$ 21,3°C
- Gasdurchfluß: ca. 15 l pro Stunde
- Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Begasung Stunden	pH-Wert	Virusgehalt pro Fadenträger	
		nach Begasung	Kontrolle
0	7,0	---	5,0
2	7,0	5,25	5,5
4	6,8	5,0	4,75
18	6,6	4,5	5,5

Virus-Nachweissystem: Vero- und HEF-Kulturen

Ergebnis:

Der Virustiter der begasten Fäden differierte nicht von dem Titer der Kontrollfäden. Preßluft zeigte unabhängig von der Luftfeuchte keinerlei Einfluß auf die Virusstabilität.

S t i c k s t o f f

Während Stickstoff kontinuierlich die Kammer durchströmte (18 l/Std.), wurde die relative Luftfeuchtigkeit in der Kammer bei 85 - 90 % (Tabelle 7 a) und bei 55 - 60 % (Tabelle 7 b) eingestellt. Die Messung der Temperatur und des sich ändernden Milieus in der Kammer während der Gaseinleitung erfolgte mit einem Thermometer und einem pH-Meter.

Tabelle 7 a: Relative Luftfeuchtigkeit: 85 - 90 %

- Temperatur in der Kammer: $\varnothing$ 25,1°C
- Gasdurchfluß: ca. 18 l pro Stunde
- Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Begasung Stunden	pH-Wert	Virusgehalt pro Fadenträger	
		nach Begasung	Kontrolle
0	7,0	---	5,0
2	7,1	4,5	4,5
6	7,4	3,75	4,5
18	7,5	4,0	4,25
18	7,5	4,25	4,25

Virus-Nachweissystem: BEL-Kulturen

Tabelle 7 b: Relative Luftfeuchtigkeit: 55 - 60 %

- Temperatur in der Kammer: $\varnothing$ 25,8°C
- Stickstoffdurchfluß: ca. 18 l pro Stunde
- Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Begasung Stunden	pH-Wert	Virusgehalt pro Fadenträger	
		nach Begasung	Kontrolle
0	7,0	---	4,75
2	7,2	4,25	4,25
2	7,2	4,25	4,0
6	7,5	3,75	3,5
12	7,6	3,0	3,75
18	7,7	3,0	3,0
18	7,7	3,0	3,75

Virus-Nachweissystem: HEF-Kulturen

Ergebnis:

Auch die Begasung mit Stickstoff übte keinerlei destabilisierenden Einfluß auf das trägergebundene Virus aus.

Als Nebenfund konnte registriert werden, daß mit N₂ begastes Virus im Zellkultur-Nachweissystem im Vergleich zum Kontrollvirus signifikant rascher (1 - 2 Tage) den cytopathischen Effekt hervorrief.

S a u e r s t o f f

Das Trägervirus wurde bei Luftfeuchten von ca. 90 % (Tabelle 8 a) und ca. 60 % (Tabelle 8 b) mit Sauerstoff begast, der einer Gasflasche entnommen wurde. Temperatur und Milieuänderung in der Kammer wurden registriert und dokumentiert.

Tabelle 8 a: Relative Luftfeuchtigkeit: 85 - 90 %

- Temperatur in der Kammer: Ø 24,0°C

- Sauerstoffdurchfluß: ca. 18 l pro Stunde

- Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Begasung Stunden	pH-Wert	Virusgehalt pro Fadenträger	
		nach Begasung	Kontrolle
0	7,0	---	5,0
6	7,4	4,5	4,25
18	7,9	4,75	5,0
18	7,9	4,75	5,0

Virus-Nachweissystem: BEL- und HEF-Kulturen

Ergebnis:

Reiner Sauerstoff hatte bei hoher Luftfeuchte ebenfalls keinerlei virusschädigende Wirkung.

Der cytopathische Effekt des begastes Virus in Zellkulturen wurde durch die Behandlung auffallend um 1 - 2 Tage verzögert.

Tabelle 8 b: Relative Luftfeuchtigkeit: 55 - 60 %

- Temperatur in der Kammer: $\varnothing$ 21,7°C
- Sauerstoffdurchfluß: ca. 18 l pro Stunde
- Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Begasung Stunden	pH-Wert	Virusgehalt pro Pادenträger	
		nach Begasung	Kontrolle
0	7,0	---	4,75
6	7,8	4,75	5,0
18	8,5	3,5	5,0
18	8,5	3,5	5,0

Virus-Nachweissystem: HEF- und Vero-Kulturen

Ergebnis:

Sauerstoff, unter einer relativen Luftfeuchte von nur 60 % 18 Stunden durch die Kammer geleitet, reduzierte den Virusgehalt an den Trägern gegenüber der Kontrolle signifikant um etwa zwei Zehnerpotenzen (99 %).

Das bei einer geringeren relativen Luftfeuchtigkeit mit O₂ begaste Virus erzeugte ebenfalls zeitlich verzögert den cpE im Zellrasen. Die Virustitrierung konnte erst zwei Tage später als bei den Kontrollen ausgewertet werden, unabhängig von der verwendeten Zellart.

Bei den folgenden Begasungsversuchen mit Sauerstoff (Tabelle 8 c₁, 8 c₂, 8 c₃) wurde die Methodik variiert.

Die Salzlösung, die zur Einstellung der relativen Luftfeuchtigkeit diente, entfiel aus der Versuchsanordnung. Sauerstoff strömte nun aus der Flasche über das Sterilfilter direkt in die Kammer. Dort herrschte bei den Versuchen eine relative Luftfeuchtigkeit von 35 - 40 %.

Tabelle 8 c₁: - Temperatur in der Kammer: $\varnothing$ 23,4°C
 - Sauerstoffdurchfluß: ca. 18 l pro Stunde
 - Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Begasung Stunden	pH-Wert	Virusgehalt pro Fadenträger	
		nach Begasung	Kontrolle
0	7,0	---	5,25
6	7,0	4,75	4,5
6	7,0	4,75	4,5
18	7,7	2,5	4,25
18	7,7	2,75	4,25

Virus-Nachweissystem: HEF-Kulturen

Tabelle 8 c₂: - Temperatur in der Kammer: $\varnothing$ 26,1°C
 - Sauerstoffdurchfluß: ca. 18 l pro Stunde
 - Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Begasung Stunden	pH-Wert	Virusgehalt pro Fadenträger	
		nach Begasung	Kontrolle
0	7,0	---	4,5
6	7,9	4,25	4,5
18	8,2	1,75	4,75
18	8,2	2,25	4,75

Virus-Nachweissystem: BEL-Kulturen

Ergebnis:

Das Virus verlor innerhalb von 18 Stunden durch die Sauerstoffbegasung deutlich an Stabilität; die Differenz zur Kontrolle bedeutet wiederum etwa 99 % Virusverluste. Bei der Wiederholung der Versuchsanordnung (Tabelle 8 c₂) wurden ähnliche Ergebnisse erzielt. Der cpE beim Virusnachweis erschien wiederum um zwei Tage verzögert.

Im dritten Versuch dieser Reihe (Tabelle 8 o₃) wurde die Sauerstoffbegasung auf 48 Stunden Dauer ausgedehnt, die Versuchsanordnung aber beibehalten (ohne gesättigte Salzlösung).

Tabelle 8 o₃: - Temperatur in der Kammer: Ø 24,7°C
 - Sauerstoffdurchfluß: ca. 18 l pro Stunde
 - Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Begasung Stunden	pH-Wert	Virusgehalt pro Fadenträger	
		nach Begasung	Kontrolle
6	7,7	4,75	5,0
18	7,9	2,75	5,0
48	8,4	1,75	3,0
48	8,4	1,75	3,25

Virus-Nachweissystem: BEL-Kulturen

Ergebnis:

Die Begasung mit reinem Sauerstoff reduzierte wiederum die Infektiosität des angetrockneten Vaccinia-Virus bereits nach 18 Stunden um zwei, nach 48 Stunden sogar um drei Zehnerpotenzen. Im Vergleich mit den Kontrollen wurde ab dem zweiten Begasungstag der Virusgehalt nicht durch die Sauerstoffbegasung weiter reduziert. Wie in den Vorversuchen ermittelt, waren nach 48 Stunden auch bei den Kontrollen bereits erhebliche Verluste an infektiösem Virus (zwei Zehnerpotenzen) nachweisbar.

Kohlendioxid

Einer Gasflasche entnommen durchströmte Kohlendioxid für 18 Stunden die Versuchskammer, die relative Luftfeuchtigkeit war auf ca. 90 % (Tabelle 9 a) und auf 60 % (Tabelle 9 b) eingestellt. Temperatur und pH-Wert in der Kammer wurden wie üblich gemessen und dokumentiert.

Tabelle 9 a: Relative Luftfeuchtigkeit: 85 - 90 %
- Temperatur in der Kammer: $\varnothing$ 23,2°C
- Kohlendioxidmenge: ca. 16 l pro Stunde
- Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Begasung Stunden	pH-Wert	Virusgehalt pro Fadenträger	
		nach Begasung	Kontrolle
0	7,0	---	5,5
6	3,9	4,75	4,75
18	3,8	4,75	5,0
18	3,8	5,0	5,0

Virus-Nachweissystem: BEL-Kulturen

Tabelle 9 b: Relative Luftfeuchtigkeit: 60 - 63 %

- Temperatur in der Kammer: $\varnothing$ 20,8°C
- Kohlendioxidmenge: ca. 16 l pro Stunde
- Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Begasung Stunden	pH-Wert	Virusgehalt pro Fadenträger	
		nach Begasung	Kontrolle
0	7,0	---	5,5
6	4,8	5,0	5,5
18	4,6	5,25	5,25

Virus-Nachweissystem: Vero-Kulturen

Ergebnis:

Kohlendioxid vermochte nicht, den Virustiter des Modellvirus zu reduzieren, unabhängig von der Luftfeuchtigkeit. CO₂ exponiertes Virus erzeugte im Zellrasen um etwa 1 - 2 Tage früher einen cytopathischen Effekt als das Kontrollvirus.

A m m o n i a k

Bei der Begasung mit Ammoniak mußte die Versuchsanordnung modifiziert werden (siehe 3.1.5.3., Seite 32).

Das Gas durchströmte die Kammer nicht kontinuierlich, sondern wurde jeweils nur für 10 Minuten eingeleitet (zu Beginn und jeweils nach Entfernen einer Spule). Ansonsten wurde die Kammer gasdicht verschlossen.

Die relative Luftfeuchtigkeit in der Kammer ließ sich bei der Begasung mit Ammoniak nicht regulieren, da sich das Gas in den gesättigten Salzlösungen löste. Letztere wurden deshalb aus der Versuchsanordnung entfernt.

Während der Versuche (Tabelle 10) herrschte durchgehend eine relative Luftfeuchtigkeit von ca. 60 % in der Kammer. Die durchschnittliche Temperatur und die Veränderung des Kammermilieus wurden bestimmt und dokumentiert.

Tabelle 10: Ammoniakbegasung

- Temperatur in der Kammer: $\varnothing$ 22,8°C
- Virusgehalt in log 10 KID₅₀/ml

Begasung Stunden	pH-Wert	Virusgehalt pro Fadenträger	
		nach Begasung	Kontrolle
0	7,0	---	4,75
4	11,0	≤ 0,5	4,75
6	11,1	≤ 0,5	4,75
18	11,6	≤ 0,5	5,25
18	11,6	≤ 0,5	5,25

Virus-Nachweisystem: HEF- und Vero-Kulturen

Ergebnis:

Bereits nach vier Stunden war alles Virus auf den Fadenträgern durch Ammoniak bis zur Nachweisgrenze inaktiviert. Dies entsprach einer Reduzierung des Virusgehalts um vier oder mehr Zehnerpotenzen. Hervorzuheben ist das sehr alkalische Milieu durch die Ammoniakbehandlung in der Kammer.

3.2.4.2. Inaktivierungsversuche mit viruziden Aerosolen

Drei mit Virus präparierte Spulen wurden in die dafür vorgesehenen Öffnungen der Versuchskammer eingesetzt und jeweils für 5, 15 und 30 Minuten den zu prüfenden Aerosolen (durchschnittliche Tröpfchengröße 0,5 - 5,5 μm) ausgesetzt.

Die Aerosole wurden in einer ersten Serie kontinuierlich während der gesamten Versuchsdauer durch die Kammer geleitet (D a u e r v e r s u c h).

In einer zweiten Serie erfolgte die Aerosolbehandlung in Intervallen (I n t e r v a l l v e r s u c h). Nach einer Aerosoldosierung über eine Minute wurde der Aerosolerzeuger abgeschaltet, ebenso die nachgeschaltete Saugpumpe. Fünf Minuten nach Versuchsbeginn wurde die erste Fadenspule entnommen. Dann wurde wieder für eine Minute Aerosol eingeleitet, anschließend der Aerosolgenerator und die Saugpumpe abgeschaltet. Die zweite Fadenspule war dem Aerosolstrom also zweimal für je eine Minute ausgesetzt, 15 Minuten nach Versuchsbeginn wurde sie aus der Versuchsanordnung herausgenommen und ihr Virusgehalt bestimmt. Entsprechend wurde bei der dritten Spule verfahren (Abb. 6, S. 60).

Die Intervalleinleitung der Aerosole sollte verhindern, daß auf den Fäden Flüssigkeitströpfchen kondensieren und das angetrocknete Virus mit der konfluierenden Flüssigkeit abtropft.

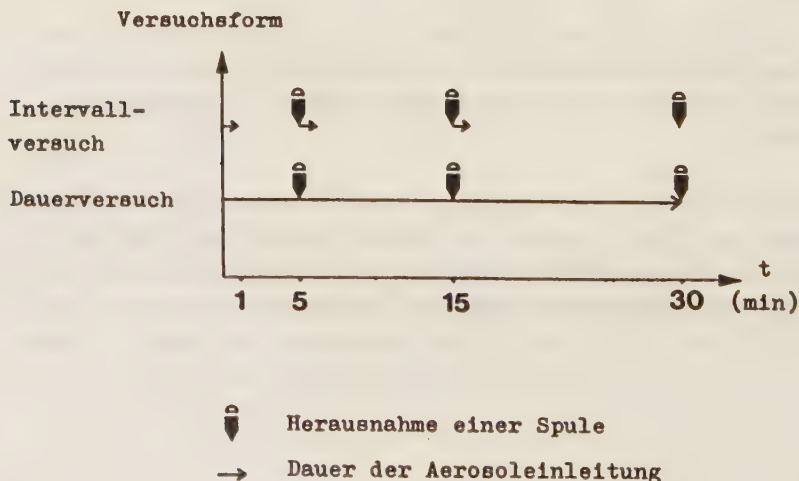
Für die Ermittlung des Ausgangs- bzw. Vergleichswertes (K o n t r o l l e V E ₀) wurde vor Versuchsbeginn der SERAFIL-Faden einer gleichartig mit Vaccinia-Virussuspension beschickten Fadenspule gewonnen und sein Virusgehalt bestimmt.

Eine zweite mit Virus beschickte Fadenspule wurde als zweite Kontrolle (K o n t r o l l e H_2O) in der Ersatzversuchskammer 30 Minuten lang mit einem Aerosol aus sterilfiltriertem destilliertem Wasser behandelt. Der Virustiter dieser Fadenspule diente als Vergleichswerte für Normalverluste an Virus, bedingt durch "Abspüleffekte".

Das aerosolierte Formalin (1 % ig) stellte eine positive (viruzide) Vergleichskontrolle zu den Aerosolen von Kaliumpermanganat- und Wasserstoffperoxid-Lösungen dar, die durch Sauerstoffabspaltung mikrobizid wirken können.

Die relative Luftfeuchtigkeit in der Versuchskammer bewegte sich während der Versuche zwischen 85 und 93 %, es herrschte ein leicht alkalisches Milieu in der Kammer vor. Bei allen Versuchen wurde in der Kammer eine konstante Temperatur von ca. $21^{\circ}C$ gemessen.

Abbildung 6: Schema des Versuchsablaufes bei der Aerosolbehandlung



Kaliumpermanganat

Zu den älteren und schwach wirksamen Desinfizientien zählt Kaliumpermanganat. Seine Wirkung beruht auf der Sauerstoffabspaltung. Kaliumpermanganat wird wie andere Oxydantien zu den schnell wirkenden Desinfektionsmitteln gerechnet.

Für die 0,1 normale Lösung (0,1 N) wurden 3,16 g KMnO_4 Kristalle vor Versuchsbeginn in einem Liter Wasser gelöst, die 10 % ige Gebrauchsverdünnung (10 %) wurde ebenfalls mit sterilfiltriertem Wasser hergestellt (Tabelle 11).

Tabelle 11: Aerosolbehandlung mit KMnO_4

- Dauerversuch: kontinuierliche Aerosoleinleitung während gesamter Versuchsdauer
- Intervallversuch: Aerosoleinleitung jeweils nur für eine Minute.
- Virustiter in - log 10 KID₅₀ pro Faden

KMnO_4	Dauerversuch		Intervallversuch	
	10 %	0,1 N	10 %	0,1 N
Kontrolle VE_0	5,0	5,5	4,75	5,5
5 Minuten	4,25	5,25	4,75	5,25
15 Minuten	4,75	5,0	4,25	5,5
30 Minuten	4,0	5,5	4,5	5,0
Kontrolle H_2O	4,75	5,5	4,75	5,5

Virus-Nachweissystem: BEL-, HEF- und CV₁-Kulturen

KMnO_4 Aerosol vermochte den Virusgehalt an den Trägern nicht zu reduzieren.

W a s s e r s t o f f p e r o x i d

Die desinfizierende Wirkung des Wasserstoffperoxids beruht auf seiner Sauerstoffabspaltung (6 H_2O_2 Moleküle zerfallen hierbei zu 6 H_2O und 3 O_2 Molekülen), der Desinfektionseffekt tritt rasch ein. In der Medizin wird deshalb die 3 % ige H_2O_2 -Lösung als Wunddesinfizienz seit langem verwendet.

Da der naszierende Sauerstoff sehr korrosiv wirkt, wurde neben der 3 % igen Lösung noch die 1 % ige auf ihre viruzide Eigenschaft hin untersucht (Tabelle 12).

Tabelle 12: Aerosolbehandlung mit Wasserstoffperoxid

- Dauerversuch: kontinuierliche Aerosoleinleitung während der gesamten Versuchsdauer
- Intervallversuch: jeweils für eine Minute wird das Aerosol eingeleitet
- Virustiter in - $\log_{10}$ KID₅₀ pro Fadenträger

H_2O_2	Dauerversuch			Intervallversuch	
	3 %	3 %	1 %	3 %	1 %
Kontrolle VE ₀	5,25	4,75	5,25	5,0	5,25
5 Minuten	1,0	2,0	4,25	2,25	5,0
15 Minuten	≤ 0,5	≤ 0,5	3,75	≤ 0,5	4,5
30 Minuten	≤ 0,5	≤ 0,5	2,75	≤ 0,5	4,25
Kontrolle H ₂ O	5,0	4,75	5,5	5,25	5,5

Virus-Nachweissystem: BEL- und Vero-Kulturen

Ergebnis:

3 % ige Wasserstoffperoxidlösung als Aerosol kontinuierlich im Dauerversuch über virusbeschickte Fadenträger geleitet, reduzierte die Infektiosität des Vaccinia-Virus erheblich.

Nach 15 Minuten war der Virusgehalt bis unter die Nachweisgrenze (— — —) gesunken. Diese Reduktion an infektiösem Virus um etwa fünf Zehnerpotenzen oder mehr entspricht etwa einer Inaktivierung von mindestens 99,999 %.

Die Behandlung im Dauerversuch mit Aerosol der 1 % igen Wasserstoffperoxid-Lösung wirkte gut, aber nicht durchdringend viruzid. Nach 5 Minuten waren etwa 90 %, nach 15 Minuten etwa 95 % und nach 30 Minuten immerhin über 99 % des Trägervirus inaktiviert.

Die Intervallbehandlung mit Aerosolen der gleich stark konzentrierten Gebrauchslösungen führte zu ähnlichen Ergebnissen. Aerosol der 3 % igen Wasserstoffperoxid-Lösung inaktivierte alles Virus nach 15 Minuten, solches der 1 % igen H_2O_2 -Lösung nur etwa 90 % nach 30 Minuten.

F o r m a l i n

Formalin (1 % ig) inaktiviert behülltes Virus sicher, die desinfizierende Wirkung tritt allerdings nur sehr langsam ein. Das Formalin-Aerosol diente in der Versuchsanordnung als positive Kontrolle (Tabelle 13) zu den Untersuchungen mit den Oxydantien Kaliumpermanganat und Wasserstoffperoxid.

Tabelle 13: Aerosolbehandlung mit Formalin

- Virustiter in - log 10 KID₅₀ pro Fadenträger

HCOH	Dauerversuch 1 %	Intervallversuch 1 %
Kontrolle VE ₀	5,25	5,25
5 Minuten	4,5	4,5
15 Minuten	3,75	3,5
30 Minuten	1,0	3,0
Kontrolle H ₂ O	5,5	5,25

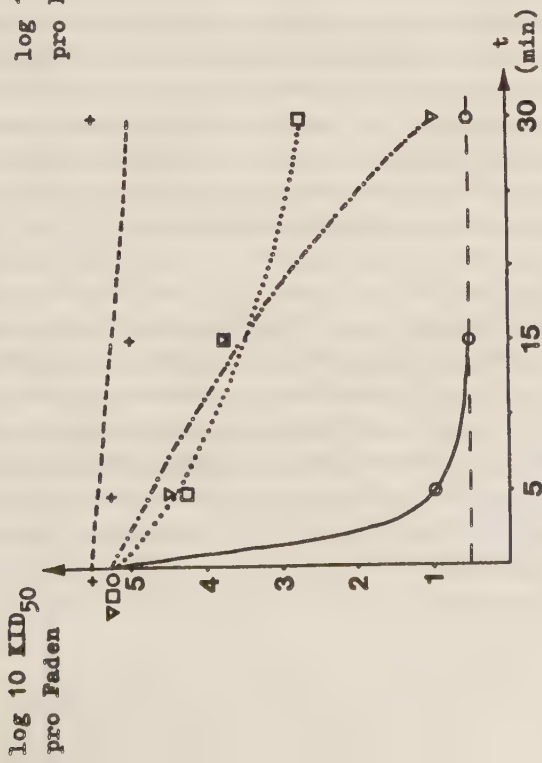
Virus-Nachweisssystem: Vero- und CV₁-Kulturen

Im Dauerversuch wirkte Formalin als Aerosol destabilisierend auf das Trägervirus, nach 15 Minuten Einwirkzeit sank der Virustiter um ca. zwei Zehnerpotenzen, nach 30 Minuten um etwa vier Zehnerpotenzen. Die vorgegebene Zeit von 30 Minuten reichte für Formalin also nicht aus, das angetrocknete Vaccinia-Virus bis zur Nachweisgrenze zu inaktivieren.

Im Intervall eingeleitetes Formalin-Aerosol reduzierte den Virustiter nach 30 minütiger Einwirkzeit lediglich um zwei Zehnerpotenzen (99 %).

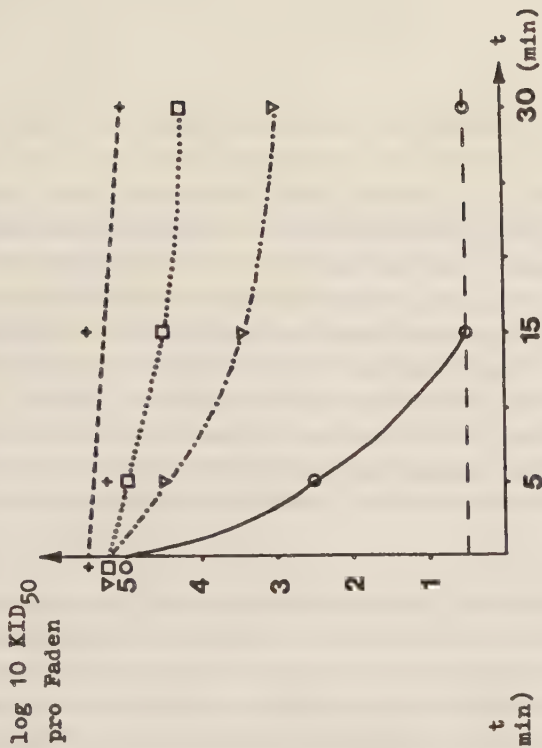
Der jeweilige Verlauf der Inaktivierung durch Aerosole von Kaliumpermanganat, Wasserstoffperoxid und Formalin ist in der Abbildung 7 noch einmal vergleichend schematisch dargestellt.

Abbildung 7: Graphische Darstellung der Ergebnisse aus den Aerosolversuchen



DAUERVERSUCH

- ——— H₂O₂ (3 %)
- H₂O₂ (1 %)
- + - - - - KMnO₄ (0,1 N)
- ▽ - · - · HCOH (1 %)



INTERVALLVERSUCH

4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Nach SCHMIDT und BRAND (1955) sind die Ergebnisse aus Desinfektionsmittelpfungen, die sie in Suspensionsversuchen gewonnen hatten, nur bedingt auf aerogenes Virus übertragbar. Es wurde ein Verfahren gesucht, mit dem der luftgetragene Zustand der Viren simuliert werden konnte. Schon die genannten Autoren berichten von Schwierigkeiten, Desinfektionsversuche an luftgetragem Influenza-Virus durchzuführen, da die künstlich erzeugten Virusaerosole nur für eine begrenzte Zeit in Schwebel gehalten werden konnten.

MAY und DRUETT (1968) entwickelten dann, um das Problem zu umgehen, das sogenannte Mikrothread-Verfahren, in welchem sie den luftgetragenen Zustand von Bakterien nachahmten. Die Mikroorganismen brachten sie auf dünne Spinnenfäden auf, die um Stahlrahmen gewickelt waren. Die mit Bakterien beschickten Fäden fügten sie in eine Versuchsanordnung ein und konnten so die Umweltbedingungen wie Temperatur und Luftfeuchtigkeit beliebig variieren. Anstelle der Luft ließen sich auch Gase mit eventuell bakterizider Wirkung prüfen. NICKLAS und BUSSE (1982) verwendeten dasselbe Verfahren zur Prüfung verschiedener Aerosole auf ihre bakterizide Wirkung.

Viren werden in der Luft eines Raumes oder Stalles adsorbiert an diverse größere Partikel, wie Tröpfchen oder vor allem Staub, transportiert. Im Gegensatz zu luftgetragenen Bakterien, wie sie von MAY und DRUETT (1968) sowie NICKLAS und BUSSE (1982) eingesetzt wurden, sind Viren, bedingt durch ihre Größe (20 - 300 nm), stets an mehrfach größere Trägerpartikel gebunden. Die Methode von MAY und DRUETT durfte deshalb bezüglich der Träger bei unserer auf Viren bezogenen Fragestellung modifiziert und inerte dünne Fäden aus SERAFIL (Kunststoff) verwendet werden.

In den eigenen Untersuchungen wurde das modifizierte Mikrothread-Verfahren dazu verwendet, das Verhalten von luftgetragenen Virus nachzuahmen und verschiedene Gase oder Aerosole auf ihre viruziden Eigenschaften an aerogenen Viren zu prüfen. Das "stabile Virusaerosol" sollte verhindern, daß durch Absinken oder Wegströmen, also rein mechanisch bedingte Virusverluste die Ergebnisse verfälschen. Außerdem mußte sich das Virus einfach und möglichst ohne Verluste wieder rückgewinnen lassen. Das Mikrothread-Verfahren schien auch deshalb gut geeignet, weil hier in einer einfachen und praktikablen Versuchsanordnung Virus ausreichend lange Gasen und Aerosolen ausgesetzt, daneben sämtliche Versuchsparameter variiert und kontrolliert werden konnten.

Die Versuche wurden mit dem Vaccinia-Virus, Stamm Elstree, durchgeführt. Es dient gemäß den Richtlinien der DVV (1982) und der DVG (1984) als Modellvirus für Desinfektionsmittelpfprüfungen. Das dem Genus Orthopoxvirus zugehörige behüllte Virus verhält sich im angetrockneten Zustand sehr stabil (SIDWELL et al., 1966). In den Vorversuchen zur Virushaftung und -stabilität blieb das Virus am SERAFIL- und am SEIDE-Faden quantitativ stabil. Die Antrocknung jedoch überstand das Virus nur beim Kunststoffaden SERAFIL ohne Verluste. Durch verschiedene Zusätze wie Gummi arabicum, Tylose, Polygeline und FRS wurde versucht, die Haftung zu verbessern und das Virus vor allem für die Antrocknung zu stabilisieren. Nur durch Zusatz von 40 % FRS bzw. 25 % Polygeline ließ sich dies erreichen. Bei der SEIDE ging trotz der Zusätze durch den Antrocknungsvorgang infektiöses Virus verloren. Die Variation der Beschickungstechnik - zuerst Auftragen des viskösen klebrigen Mediums und anschließend der reinen eiweißarmen Virussuspension - erbrachte keine Verbesserung der Ergebnisse.

In den Hauptversuchen mit Gasen waren Einwirkungszeiten bis zu 24 Stunden vorgesehen, über diese Zeit sollten keine natürlichen Virusverluste auftreten. 24 Stunden nach der Antrocknung der Viren (eine Stunde unter dem Laminar flow einer Biologischen Sicherheitskabine) an den SERAFIL-Faden blieb der Virusgehalt nur dann quantitativ stabil, wenn der Virus-suspension 25 % Polygeline zugesetzt worden war. Dagegen traten in der gleichen Zeit nach Zusatz von 40 % FRS bereits deutliche Virusverluste auf. In den Hauptversuchen wurde folglich nur durch Polygeline stabilisiertes Virus verwendet.

Im Zusammenhang mit der Luftdesinfektion wird in den Standard- und Nachschlagewerken der Hygiene und Desinfektion (ROOTS et al., 1972; WALLHÄUSSER, 1978; SCHLIESSER und STRAUCH, 1981) stets auf verschiedene Verfahren der Formalin-Begasung hingewiesen. Durch Formalingas werden Viren jedoch nur bei hoher Luftfeuchtigkeit sicher abgetötet, allerdings soll nach DIETZ et al. (1980) diese Art der Desinfektion nicht in Räumen mit korrosionsempfindlicher elektronischer Ausrüstung durchgeführt werden.

In den eigenen Untersuchungen wurden umweltschonende und umweltneutrale Gase, Bestandteile der Normalluft, auf ihre viruzide Wirkung hin untersucht. Seit langem ist die mikrobizide Wirkung der freien Atmosphäre bekannt, trotzdem konnte bisher der oder die eigentlich germiziden Bestandteile nicht genau definiert werden (MAY und DRUETT, 1968; MAY, 1969; BENBOUGH und HOOD, 1971; HYSLOP, 1973; SELLERS et al., 1973; HOOD, 1974; SPROCKHOFF und MARSCHALL, 1978).

Nach MAY und DRUETT (1968) verliert frische Luft schon ihre germizide Wirkung, wenn sie durch eine Röhre geleitet wird. Im Versuch mit P r e s l u f t, der als Kontrolle und Vergleich dienen sollte, wurde der Virusgehalt der Fadenträger auch bei verschiedenen hohen Luftfeuchten nicht dezimiert.

Auch die Begasung mit S t i c k s t o f f hatte keinerlei Einfluß auf die Virusinfektiosität. Das Gas schien im Gegenteil das Virus eher zu stabilisieren und seine cytopathische Potenz zu fördern. Dieses Ergebnis bestätigt die Angaben von ANDERSON und COX (1967), daß Bakterien und Viren länger infektiös bleiben, wenn in der Luft Sauerstoff durch Stickstoff ersetzt wird.

Reines K o h l e n d i o x i d, bei verschiedenen relativen Luftfeuchtigkeiten angewendet, zeigte ebenfalls keinerlei viruzide Wirkung. Das damit verbundene saure Milieu, pH 4,8 bei 60 % relativer Luftfeuchtigkeit bzw. pH 3,9 bei 90 % relativer Luftfeuchtigkeit nach 6 Stunden, beeinflusste die Virusstabilität nicht.

Differenziert erwies sich die Wirkung von reinem S a u e r s t o f f auf das trägergebundene Vaccinia-Virus. Bei einer hohen relativen Luftfeuchtigkeit (ca. 90 %) ließ sich zunächst ein destabilisierender Einfluß nicht messen. Unter der relativen Luftfeuchte von 60 % jedoch sank der Virusgehalt nach 18 Stunden Begasung um 2 - 3 Zehnerpotenzen ab. Die weitere Reduzierung der relativen Luftfeuchtigkeit auf 35 - 40 % beeinflusste diesen Effekt nicht zusätzlich, nach 18 stündiger Sauerstoffbegasung waren etwa 99 % des Virus inaktiviert. Mehr ließ sich im Vergleich zur Kontrolle das Virus auch nicht dezimieren, wenn die Sauerstoffexposition bei niedriger Luftfeuchte auf 48 Stunden ausgedehnt wurde.

Dieses Ergebnis steht nicht im Einklang zu den Angaben aus der Literatur, daß Viren bei einer niedrigen Luftfeuchtigkeit eher stabilisiert werden (WATKINS et al., 1963; HARPER, 1961). Von verschiedener Seite wurde auch beschrieben, daß die Stabilität von aerogenem Virus durch Luftsauerstoff nicht beeinflusst wird (DE JONG und WINKLER, 1968; RECHSTEINER und WINKLER, 1969; BENBOUGH, 1971; DE JONG et al., 1975).

Nach v. SPROCKHOFF und MÜLLER (1978) sollen jedoch Sauerstoff-Radikale einen Bestandteil des OAF darstellen. Angaben über die Beziehung Luftfeuchtigkeit - Luftsauerstoff und OAF werden nicht gemacht. Offensichtlich muß aber zwischen einer Wirkung von Sauerstoff als Anteil der Luft und reinem (aggressiverem ?) Sauerstoff differenziert werden.

Mit A m m o n i a k begastes Virus war schon nach 4 Stunden quantitativ inaktiviert. Der praktischen Anwendung dieses guten viruziden Effektes stehen allerdings die toxischen und korrosiven Eigenschaften von Ammoniak entgegen. Ob das behüllte Modell-Virus durch eine direkte Reaktion von Virus-komponenten mit Ammoniak oder aber durch das alkalische Milieu (pH - 11) inaktiviert wurde, bleibt offen. Hier wird jedoch die Frage tangiert, ob der Ammoniakgehalt der Stallluft (MAX 10 ppm) luftgetragenes Virus anzugreifen vermag.

Zusammenfassend ist festzuhalten, daß keines der untersuchten umweltneutralen Gase das Modell-Virus in dieser Versuchsanordnung im gewünschten Maße zu inaktivieren vermochte. Die Temperatur, die während der Versuche in der Begasungskammer herrschte (zwischen 20,8°C und 26,1°C), hatte keinen Einfluß auf die Infektiosität des Virus. Dies wurde durch Kontrollen abgesichert und wird durch Literaturangaben bestätigt (HARPER, 1961; WATKINS et al., 1963; THIEL, 1977; v. SPROCKHOFF und MARSCHALL, 1984). Im Aerosol soll die Stabilität der Pockenviren nur sehr wenig von der Luftfeuchtigkeit abhängen (ORLANDO und RILEY, 1968; v. SPROCKHOFF und MARSCHALL, 1984); im allgemeinen werden Viren jedoch bei einer niedrigen Luftfeuchtigkeit stabilisiert (WATKINS et al., 1963; BENBOUGH, 1971; THIEL, 1977; MAHNEL, 1984). In den eigenen Untersuchungen vermochte reiner Sauerstoff das angetrocknete Vaccinia- Virus allerdings nur bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit eindrucksvoll zu destabilisieren, ohne allerdings umfassend viruzid auf dieses behüllte Virus zu wirken. Bei einer hohen Luftfeuchte hatte er keinerlei Einfluß.

In Aerosolform ausgebrachte Desinfektionsmittel wirken besser als gasförmige. Aerosole führen zu einer hohen Luft - Wasser - Wechselbeziehung (TROUWBORST et al., 1972), der Wirkstoff kann angetrocknetes Virus aufweichen, lösen und besser durchdringen (MAHNEL, 1983). Bei gleichem Desinfektionseffekt läßt sich die ausgebrachte Wirkstoffmenge reduzieren. In den eigenen Untersuchungen sollten zwei weitgehend umweltneutrale, materialschonende Desinfizientien in Aerosolform auf ihre viruzide Wirkung auf luftgetragenes Virus untersucht werden.

K a l i u m p e r m a n g a n a t inaktivierte innerhalb weniger Minuten Bakteriophagen, wenn sie Aerosolen einer 0,2 bis 0,5 % igen Lösung ausgesetzt wurden. Der für den Desinfektionseffekt verantwortliche naszierende Sauerstoff erwies sich aber in dieser Konzentration als äußerst aggressiv für andere organische Materialien (DEUTSCH und ROHR, 1955). In den eigenen Untersuchungen vermochte die vergleichsweise schwächere 0,1 normale Kaliumpermanganat-Lösung (3,1 g/l), als Aerosol ausgebracht, nicht das Träger-Virus zu inaktivieren. Allerdings weisen Bakteriophagen neben einer abweichenden Morphologie von den animalen Viren einen völlig verschiedenen Infektionsmechanismus auf (ROLLE und MAYR, 1984).

Als weiteres Oxidans wurde W a s s e r s t o f f p e r o x i d als Aerosol in der Versuchsanordnung auf seine Viruzidie für aerogenes Vaccinia-Virus untersucht. Dieser Wirkstoff kann in niedriger Konzentration (3 %) auch in Anwesenheit von Tieren eingesetzt werden, da beim Einatmen keine Schäden hervorgerufen werden, H_2O_2 selbst völlig geruchsfrei ist und keine Rückstände verbleiben (TRENNER et al., 1977; DIETZ et al., 1980; MAYR, 1983). Die 3 % ige Wasserstoffperoxid-Lösung soll jedoch nach NICKLAS et al. (1981) einen starken korrosiven Effekt auf verschiedenste Materialien, vor allem auf Metalle, besitzen.

In Experimenten von DIETZ et al. (1981) verursachten andererseits nur die Aerosole des Wasserstoffperoxides (3 % ig) keinerlei Störungen oder Schäden an geöffneten Taschenrechnern. Um Newcastle-Disease-Virus sicher zu inaktivieren, muß nach KÖSTERS et al. (1980) die Konzentration der H_2O_2 Lösung auf 10 % erhöht werden, an elektronischen Anlagen sollen dennoch keinerlei Störungen auftreten.

In den eigenen Untersuchungen inaktivierte die 3 % ige Lösung als Aerosol das Trägervirus bereits nach 15 Minuten zu 99,999 %. Hierbei spielte es keine Rolle, ob das Aerosol dauernd oder im Intervall eingeleitet wurde. Selbst schwächer konzentriert (1 % ig) wirkte Wasserstoffperoxid destabilisierend, nach 30 Minuten waren ca. 99 % des Virus inaktiviert. Virus, das dem Aerosolstrom nur in Intervallen für jeweils eine Minute exponiert war, verlor dagegen nur unwesentlich an Infektiosität.

Vergleichend zu den beiden Oxydantien wurde nachweislich viruzides Formalin-Aerosol (1 % ig) in die Untersuchungen einbezogen. Vaccinia-Virus in Suspension wird durch eine 0,28 % ige Formalinlösung 10 000-fach reduziert (SPICHER und PETERS, 1976). In Krusten gebundenes Vaccinia-Virus vermag nur eine 1,5 - 2 % ige Formalinlösung erst nach mehrstündiger Einwirkzeit sicher zu desinfizieren. Allerdings hinterläßt Formalin auch in niedriger Konzentration noch einen stechenden Geruch und fördert die Korrosion verschiedenster Materialien (NICKLAS et al., 1981).

In der eigenen Versuchsanordnung reduzierte das Aerosol der 1 % igen Formalinlösung den Titer des Trägervirus nach 30 Minuten um 4 Zehnerpotenzen (99,99 %). Im Intervall verwendet wurde der Virustiter in 30 Minuten lediglich um 2 Zehnerpotenzen reduziert.

Zusammenfassend läßt sich nur bestätigen, daß sich zur Inaktivierung von aerogenen behüllten Viren Wasserstoffperoxid als Aerosol eignet.

Es besitzt nicht die negativen Nebenerscheinungen des Formalins, wie stechender Geruch und Toxizität, wirkt sehr viel rascher als Formalin und hinterläßt keine Rückstände. Auch im Intervallversuch wurde das Trägervirus vollständig erfaßt. Bei gleicher Effektivität kann somit der Wirkstoffverbrauch weiter gesenkt werden. Dabei werden andere in der Begasungskammer befindliche Elemente weniger der Flüssigkeit ausgesetzt.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Am Modell des Vaccinia-Virus wurde experimentell untersucht, inwieweit es in aerogener luftgetragener Form durch umweltfreundliche Gase oder Wirkstoff-haltige Aerosole inaktiviert werden kann.

Zur Simulierung dieses Zustandes wurde eine geeignete Versuchsanordnung erstellt und erprobt, die unter standisierbaren Bedingungen reproduzierbare Ergebnisse gewährleistet. In Anlehnung an das sogenannte Mikrothread-Verfahren nach MAY und DRUETT wird das Virus in diesem Labormodell, ange-trocknet an locker aufgespulten Kunststoff- oder Seidefäden als Träger in einer geschlossenen Kammer strömenden Gasen oder Aerosolen ausgesetzt. Die Eignung der Methode für Viren ließ sich absichern.

Die Begasung des Trägervirus mit Preßluft, reinem Stickstoff und Kohlendioxid unter unterschiedlicher Luftfeuchtigkeit über einen Zeitraum von 18 bis zu 48 Stunden beeinflusste die Infektiosität des Modellvirus nicht negativ. Nur reiner Sauerstoff wirkte unter niedriger Luftfeuchtigkeit signifikant destabilisierend, jedoch nicht ausreichend viruzid. Im Vergleich dazu desinfizierte Ammoniakgas das Trägervirus in wenigen Stunden vollständig.

Von drei potentiell viruziden, relativ umweltschonenden Wirkstoff-Aerosolen zeigte nur das Aerosol von Wasserstoffperoxid in 3 % iger Lösung eine überzeugende viruzide Wirkung. Es inaktivierte alles angetrocknete Trägervirus innerhalb von 15 Minuten. Die Behandlung mit Aerosolen einer 10 % igen Kaliumpermanganat-Lösung blieb praktisch wirkungslos. Mit dem Kontroll-Aerosol von Formalin 1 % ig dagegen ließ sich das Vaccinia-Virus in 30 Minuten zwar um 99,99 % inaktivieren, aber in dieser Zeit nicht vollständig erfassen.

SUMMARY

Influence of non-polluting gases and aerosols on vaccinia-virus in a simulated airborne state (model experiments)

Using the model of the vaccinia-virus it was experimentally investigated to what extent the virus could be inactivated in aerogene form by non-polluting gases or aerosols containing active agents.

In order to simulate this condition an appropriate testing arrangement guaranteeing reproducible results under standardized conditions was erected and testified. Following the so-called "microthread" technique (MAY and DRUETT) the virus dried on loosely reeled-up synthetic or silk threads as carriers is confronted in this laboratory model with floating gases or aerosols in a closed chamber. Applicability of this method for viruses was certified.

The gasing of the carrier virus with compressed air, pure nitrogen or carbon dioxide under different atmospheric humidity over a period of 18 to 48 hours did not have a negative influence on the infectiosity of the model virus. Only pure oxygen was significantly destabilizing under low atmospheric humidity but not sufficiently virucid. In comparison thereto ammonia disinfected the carrier virus completely within a few hours.

Of the 3 potentially virucid, relatively non-polluting aerosols containing active agents only the aerosol of hydrogen peroxide in a 3 % solution showed a convincingly virucid effect. It inactivated all dried-on carrier virus within 15 minutes. The treatment of aerosols of a 10 % potassium permanganate solution remained virtually ineffective. On the other hand, the vaccinia-virus was inactivated by 99.99 % by the control aerosol of a 1 % formalin solution in 30 minutes but could not completely be investigated within this period of time.

6. LITERATURVERZEICHNIS

AFSHAR, A.

A review of non-bite transmission of rabies virus infection
Brit. Vet. J. 135, 142 - 148 (1979)

ALBRECHT, J.

Vergleichende Desinfektionsmittelprüfungen an verschiedenen
Virusarten

Arch. Hyg. 141, 460 - 468 (1957)

ANDERSON, J. D., G. S. COX

Microbial survival

In: GREGORY, P. H., J. L. MONTEITH, Airborne Microbes,
S. 203 - 226, Imperial College, London (1967)

BARLOW, D. F., A. I. DONALDSON

Comparison of the aerosol stabilities of foot-and-mouth
disease virus suspended in cell culture fluid or natural
fluid

J. gen. Virol. 20, 311 - 318 (1973)

BENBOUGH, J. E.

Some factors affecting the survival of airborne viruses

J. gen. Virol. 10, 209 - 220 (1971)

BENBOUGH, J. E., A. M. HOOD

Virucidal activity of open air

J. Hyg. Camb. 69, 619 - 626 (1971)

BITTON, G.

Adsorption of viruses onto surfaces in soil and water
Water Research 9, 473 - 484 (1975)

BOLING, M. E., M. L. RANDOLPH

Effects of x-irradiation on a temperate bacteriophage of
haemophilus influenzae

J. Virol. 22, 47 - 53 (1977)

BRODOROTTI, H. ST. v.

Vergleichende Untersuchungen über die Inaktivierung ver-
schiedener Virusarten durch Gammastrahlen

Vet. Med. Diss. München (1978)

BRODOROTTI, H. ST. v., H. MAHNEL

Vergleichende Untersuchungen zur UV-Empfindlichkeit von
Viren

Zbl. Vet. Med. B, 29, 129 - 136 (1982)

BUSCH, A., E. WERNER

Zur Problematik der Tierverträglichkeit von Peressigsäure

Mh. Vet. Med. 29, 494 - 498 (1974)

CHAMBERLAIN, A. C.

Deposition and uptake by cattle of airborne particles

Nature 225, 99 - 100 (1970)

COMLY, W. R.

Methode for studying particle size and infective potential
of IBR virus aerosols

Appl. Microbiol. 21, 369 - 378 (1971)

CONSTANTINE, D. G.

Rabies transmission by nonbite route

Publ. Health Rep. 77, 287 - 289 (1969)

DE JONG, J. C., K. C. WINKLER

Survival of measles virus in air

Nature 201, 1054 (1964)

DE JONG, J. C., K. C. WINKLER

The inactivation of polio virus in aerosols

J. Hyg. Camb. 66, 557 - 565 (1968)

DE JONG, J. C., M. HARMSSEN, T. TROUWBORST, K. C. WINKLER

Inactivation of encephalomyocarditis virus in aerosols:

Fate of virus protein and ribonucleic acid

Appl. Microbiol. 27, 59 - 65 (1974)

DE JONG, J. C., M. HARMSSEN, T. TROUWBORST

Factors in the inactivation of encephalomyocarditis virus in aerosols

Infection and Immunity 12, 29 - 35 (1975)

DE JONG, J. C., M. HARMSSEN, A. D. PLATINGA, T. TROUWBORST

Inactivation of semliki forest virus in aerosols

Appl. Microbiol. 32, 315 - 319 (1976)

DEUTSCH, M., E. ROHR

Beitrag zur Kenntnis der viruziden Wirkung von Desinfektionsmitteln

Arch. Hyg. 139, 644 - 646 (1955)

DEUTSCHE LUFTHANSA

Transport eines an Lassa-Fieber erkrankten Patienten an Bord einer Boeing 707

Lufthansa Erfahrungsbericht an die IATA (1975)

DEUTSCHE VEREINIGUNG ZUR BEKÄMPFUNG DER VIRUSKRANKHEITEN e. V.

Richtlinie des Bundesgesundheitsamtes und der Deutschen

Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten zur Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Viren

Bundesgesundheitsblatt 25, 397 - 398 (1982)

DEUTSCHE VETERINÄRMEDIZINISCHE GESELLSCHAFT e. V.
Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel
Gießen (1984)

DEUTSCHES ARZNEIBUCH

9. Ausgabe 1986, Amtliche Ausgabe
Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart (1986)

DIETZ, P., R. BÖHM, D. STRAUCH

Experimentelle Untersuchungen zur Wirksamkeit und Material-
verträglichkeit von Formaldehydgas sowie Aerosolen aus der
Peressigsäure und des Wasserstoffperoxides
Zbl. Vet. Med. B, 27, 268 - 279 (1980)

DONALDSON, A. I., K. A. J. HERNIMAN, J. PARKER, R. P. SELLERS

Further investigations on the airborne excretion of foot-
and-mouth diseases virus
J. Hyg. Camb. 68, 557 - 564 (1970)

DONALDSON, A. I.

The influence of relative humidity on the aerosol stability
of different strains of foot-and-mouth disease virus sus-
pended in saliva
J. gen. Virol. 15, 25 - 33 (1972)

DONALDSON, A. I., N. P. FERRIES

The survival of some airborne animal viruses in relation to
relative humidity
Vet. Microbiol. 1, 413 - 420 (1976)

DONALDSON, A. I., J. GLOSTER, L. D. J. HARVEY, D. H. DEANS

Use of prediction models to forecast and analyse airborne
spread during the foot-and-mouth disease outbreaks in Britany,
Jersey and the Isle of Wight in 1981
Vet. Rec. 110, 53 - 57 (1982)

DONALDSON, A. I., A. C. WARDLEY, S. MARTIN, N. P. FERRIE
Experimental Aujeszky's disease in pigs: Excretion,
survival and transmission of the virus
Vet. Rec. 113, 490 - 494 (1983)

DRUETT, H. A., K. R. MAY
The open air factor
In: HERS, J. F. PH., K. C. WINKLER: Airborne transmission
and airborne infection, 579 - 581, Osthoeck Publishing Comp.,
Utrecht (1973)

EHRlich, R., S. MILLER
Effect of relative humidity and temperature on airborne
Venezuelan equine encephalitis virus
Appl. Microbiol. 22, 194 - 199 (1971)

FENNER, F.
The biological characteristics of several strains of vaccinia,
cowpox and rabbitpox viruses
Virology 5, 502 - 529 (1958)

FOGEDBY, E. G., W. A. MALQUIST, O. L. OSTEEEN, M. L. JOHNSON
Airborne transmission of foot-and-mouth disease virus
Nord. Vet. Med. 12, 490 - 498 (1960)

FORTH, W., D. HENSCHLER, W. RUMMEL
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.
3. Auflage
Bibliographisches Institut, Mannheim, Wien, Zürich
B. J. - Wissenschaftsverlag (1980)

FRIEDEMANN, J., I. TREUHOFF
Ein und mehrwertige Alkohole (einschließlich Glykolether)
In: HORN, PRIVORA, WEUFFEN: Handbuch der Desinfektion und
Sterilisation, Band 1, 218 - 250
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin (1972)

GEISSLER, H., J. KÖSTERS, J. GERINGER, P. SCHICK,
H. VOLLQUARDSEN

Zum Frühnachweis von Newcastle Disease Virus aus der Luft
Institut für Geflügelkrankheiten der Justus-Liebig-Uni-
versität Gießen, Forschungsbericht (1970)

GLOSTER, J., R. M. BLACKALL, R. F. SELLERS, A. I. DONALDSON
Forecasting the airborne spread of foot-and-mouth disease
Vet. Rec. 108, 371 - 374 (1981)

GLOSTER, J., R. F. SELLERS, A. I. DONALDSON
Long distance transport of foot-and-mouth disease virus
over the sea
Vet. Rec. 110, 47 - 52 (1982)

GREGORY, P. H., J. L. MONTEITH
Airborne Microbes
17 th Symposium of the Society for General Microbiology,
Imperial College, London (1967)

GRÖNING, K., W. MÜLLER
Zwischenbericht zum Forschungsvohaben:
Die Mikrofadenmethode als Modell zur Prüfung der Inaktivierung
von Bakterien unter "open air"-Bedingungen
Fachrichtung Tierhaltungs- und Tierhygiene der Universität
Hohenheim (1980)

GRUND, W.
Toxische Wirkungen von Reinigungs- und Desinfektionsmitteln
auf den Menschen
Tierhyg. Inform. Eberswalde 5, 59 - 64 (1971)

HARPER, G. J.
Airborne Mikroorganisms: Survival tests with four viruses
J. Hyg. Camb. 59, 479 - 486 (1961)

HARPER, G. J.

Some observations on the influence of spreading fluids
on survival of airborne viruses

Proc. 5 th Internat. Symp. on Aerobiology Naval Biological
Lab. Oakland Calif., 335 - 341 (1965)

HEMANN, R.

Formaldehyd

In: HORN, PRIVORA, WEUFFEN: Handbuch der Desinfektion und
Sterilisation, Band 1, S. 251 - 279

VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin (1972)

HEMMES, J. H., K. C. WINKLER, S. M. KOOL

Virus survival as a seasonal factor in influenza and polio-
myelitis

Nature 188, 430 - 431 (1960)

HENDERSON, R. J.

The outbreak of foot-and-mouth disease in Worcestershire

J. Hyg. Camb. 67, 21 - 33 (1969)

HERS, J. F. PH., K. C. WINKLER

Airborne transmission and airborne infection

Osthoek Publishing Comp., Utrecht, Netherlands (1973)

HERRLICH, A., A. MAYR, E. RODENWALDT

Die Pocken

2. neubearbeitete Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart (1967)

HILBIG, V., H. G. HILLIGER

Zur Größenverteilung von Staub und Luftkeimen in der Luft
eines Versuchstierstalles

Zbl. Vet. Med. B, 20, 454 - 465 (1973)

HOOD, A. M.

Open air factors in enclosed systems

J. Hyg. Camb. 72, 53 - 60 (1974)

HORN, H., M. PRIVORA, W. WEUFFEN

Handbuch der Desinfektion und Sterilisation

Band 1: Grundlagen der Desinfektion

Band 2: Grundlagen der Sterilisation

VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin (1972)

HUGH-JONES, M. E., P. B. WRIGHT

Studies on the 1967/68 foot-and-mouth disease epidemic.

The relation of weather and the spread of the disease

J. Hyg. Camb. 68, 253 - 271 (1970)

HYSLOP, N. ST. G.

I. Secretion of foot-and-mouth disease virus and antibody
in the saliva of infected and immunized cattle.

II. Airborne infection with the virus of foot-and-mouth
disease

J. comp. Path. 75, 111 - 117 & 119 - 126 (1965)

HYSLOP, N. ST. G.

Factors influencing the epidemiology and epizootology of
airborne diseases

J. Amer. Vet. Med. Assoc. 159, 1500 - 1507 (1971)

HYSLOP, N. ST. G.

Observations on pathogenic organisms in the airborne state

Tropical Animal Health and Production 4, 28 - 40 (1972)

HYSLOP, N. ST. G.

Aerial survival and contamination of the environment by
airborne filterable organisms

Proceedings of the Symposium on Viruses in the Environment
and their Potential Hazards, Nov. 1973, 70 - 85

JARNYCH, V. S.

Aerosole in der Veterinärmedizin

VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin (1976)

JENSEN, M. M.

Inactivation of airborne viruses by ultraviolet irradiation

Appl. Microbiol. 12, 418 - 420 (1964)

KAADEN, O. R.

Luft als Vektor viraler Krankheitserreger

Tierärztl. Umschau 40, 4 - 8 (1985)

KÄRBER, G.

Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche

Arch. exp. Path. Pharmac. 162, 480 (1931)

KAPLAN, C.

The heat inactivation of vaccinia virus

J. gen. Microbiol. 18, 58 - 67 (1958)

KÖSTERS, J., A. GÖPEL, M. EL-DIMERDASH

Desinfektionsmittelprüfung an nicht homogenisierbaren Keimträgern

Praktischer Tierarzt 61, 138 - 142 (1980)

KRAATZ, G.

Vergleichende Untersuchungen über die Tenazität freier und zellgebundener Orthopockenviren

Vet. Med. Diss. München (1984)

KRETZSCHMAR, CH.

Untersuchungen zur Epizootologie der Aujeszky'schen Krankheit beim Schwein und daraus sich ergebende Schlußfolgerungen für Prophylaxe und Bekämpfung

Mh. Vet. Med. 19, 248 - 257 (1964)

KUBELKA, V., K. SLAVIK, O. SOUCEK

Ein Beitrag zum Studium der Hepatitis infectiosa
Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 121, 401 - 412 (1958)

LAWRENCE, C. A., S. S. BLOCK

Disinfection, sterilization and preservation
Verlag Lea & Febiger Philadelphia (1968)

LIDWELL, O. M.

Take-off of bacteria and viruses

In: GREGORY, P. H., J. L. MONTEITH, Airborne Microbes
S. 116 - 137, Imperial College, London (1967)

LUTZ, B.

Adsorption von luftgetragenen Viruspartikeln an organische
und anorganische Trägersubstanzen der Stallluft
Vet. Med. Diss. Gießen (1983)

MADIN, S.H., P. C. ANDRIESE, N. B. DARBY

The in vitro cultivation of tissues of domestic and laboratory
animals

Am. J. Vet. Res. 18, 932 - 941 (1957)

MACK, H., J. WEKERLE, D. STRAUCH

Vorläufige Mitteilung über die Isolierung von Aujeszky-
Virus aus Fest- und Flüssigmist von Schweinen
Tierärztl. Umschau 41, 32 - 38 (1986)

MAHNEL, H.

Labordifferenzierung der Orthopockenviren
Zbl. Vet. Med. B 21, 242 - 258 (1974)

MAHNEL, H.

Viruzide Wirkung von Desinfektionsmitteln im Suspensions-
versuch

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 87, 385 - 388 (1974)

MAHNEL, H.

Resistenzunterschiede zwischen Viren verschiedener Gruppen gegenüber einigen chemisch-physikalischen Dekontaminationsverfahren

Infection 7, 240 - 246 (1979)

MAHNEL, H.

Desinfektion von Viren

Zbl. Vet. Med. B, 30, 81 - 96 (1983)

MAHNEL, H.

Virusdesinfektion in Labor und tierärztlicher Praxis
Tierärztl. Praxis 12, 117 - 130 (1984)

MAHNEL, H., M. HERLYN

Stabilität von Teschen-, HCC-, ND- und Vaccinia-Virus gegenüber 5 Desinfektionswirkstoffen

Zbl. Vet. Med. B, 23, 403 - 411 (1976)

MAHNEL, H., K. OTTIS, M. HERLYN

Stabilität von neun Virusarten unterschiedlicher Genera in Trink- und Oberflächenwasser

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 164, 64 - 84 (1977)

MAHNEL, H., H. ST. v. BRODOROTTI, K. OTTIS

Empfindlichkeit von Viren gegen Gammastrahlen

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 170, 57 - 70 (1980)

MATHEWS, R. E. F.

Classification and nomenclature of viruses

Intervirology 12, 129 - 296 (1982)

MAY, K. R., H. A. DRUETT

A microthread technique for studying the viability of microbes in a simulated airborne state

J. gen. Microbiol. 51, 353 - 366 (1968)

MAY, K. R., H. A. DRUETT

Unstable germicidal pollutant

Nature 220, 395 - 396 (1969)

MAY, K. R., H. A. DRUETT, L. P. PACKMAN

Toxicity of open air to a variety of mikroorganisms

Nature 221, 1146 - 1147 (1969)

MAYR, A.

Viruskrankheiten - Virusdesinfektion. Neue Erkenntnisse
der Virusforschung

Notabene medici 5, 5 (1975)

MAYR, A.

Marker des attenuierten Vaccinia - Impfstammes MVA in
menschlichen Zellkulturen

Zbl. Vet. Med. B, 23, 417 - 430 (1976)

MAYR, A.

Der infektiöse Hospitalismus in der Tierproduktion

Der Praktische Tierarzt 12, 1081 - 1086 (1983)

MAYR, A., P. A. BACHMANN, B. MAYR - BIBRACK, G. WITTMANN

Sicherheit bei virologischen Arbeiten von MAHNEL, H.

In: Virologische Arbeitsmethoden Band IV.

VEB Gustav Fischer Verlag, Jena (1982)

MAYR, A., K. KALCHER

Vergleichende Studien über die Züchtung von Geflügelpocken
in der Zellkultur

Arch. ges. Virusforsch. 10, 72 - 102 (1960)

MAYR, A., H. MAHNEL, E. MUNZ

Systematisierung und Differenzierung der Pockenviren

Zbl. Vet. Med. B, 19, 69 - 88 (1972)

MERKA, V.

Oxydantien

In: HORN, H., M. PRIVORA, W. WEUFFEN, Handbuch der Desinfektion und Sterilisation, Band 1, S. 116 - 131

VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin (1972)

MOE, K., G. J. HARPER

The effect of relative humidity and temperature on the survival of bovine rotavirus in aerosol

Arch. Virol. 76, 211 - 216 (1983)

MÜLLER, W., P. WIESER, H. KÜHME

Zur Frage der Ausbreitung von Luftkeimen aus Tierställen

Zbl. Vet. Med. B, 25, 216 - 224 (1978)

NICKLAS, W., K. H. BÖHM

Untersuchungen zur Eignung verschiedener Desinfektionsmittel für die Aerosoldesinfektion von Oberflächen

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 173, 365 - 373 (1981)

NICKLAS, W., K. H. BÖHM, B. RICHTER

Untersuchungen zum Korrosionsverhalten einiger für die Aerosoldesinfektion geeigneter Desinfektionsmittel

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 173, 374 - 381 (1981)

NICKLAS, W., M. BUSSE

Aerosoldesinfektion von Luftkeimen - Untersuchungen mit dem Mikrothread-Verfahren

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 176, 39 - 46 (1982)

ORLANDO, M. D., J. M. RILEY

Studies with dried airborne vaccinia-virus in a small environmental chamber

Biotechnology and Bioengineering Vol. X, 151 - 157 (1968)

OTTIS, K.

Vergleichende Untersuchungen über die Tenazität von Viren
in Trink- und Oberflächenwasser
Vet. Med. Diss. München (1976)

PÖHN, H. P., K. HEICKEN

Prüfung von Desinfektionsmitteln auf Viruzidie gegenüber
Virusarten der Pocken-Vaccinia-Gruppe
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. 202, 172 - 183 (1967)

RECHSTEINER, J., K. C. WINKLER

Inactivation of respiratory syncytial virus in aerosol
J. gen. Virol. 2, 405 - 410 (1969)

ROLLE, M., A. MAYR

Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre
5. Auflage, Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (1984)

ROOTS, HAUPT, HARTWIGK

Veterinärhygiene
2. Auflage, Paul Parey Verlag, Berlin Hamburg (1972)

SCARLETT, M., G. K. MATHEWSON

Terminal disinfection of calf houses by formaldehyde
fumigation
Vet. Rec. 101, 7 - 10 (1977)

SCHLIESSER, T.

Zum Problem der Stalldesinfektion
Tierärztl. Praxis 2, 1 - 8 (1974)

SCHLIESSER, T.

Tierarzt und Desinfektion
Tierärztl. Umschau 30, 319 - 325 (1975)

SCHLIESSER, T.

Erfahrungen mit dem DVG-Prüfungsverfahren für Stalldesinfektionsmittel

Tierärztl. Umschau 41, 859 - 862 (1986)

SCHLIESSER, T., D. STRAUCH

Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch- und Milchwirtschaft
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart (1981)

SCHMIDT, B., G. BRAND

Probleme der Virusdesinfektion und der Prüfung von Desinfektionsmittel auf Viruzidie

Zbl. Bakt. Hyg. I. Orig. 164, 514 - 523 (1955)

SCHÜMANN, K. O., K. GROSSGEBAUER

Versuche zur Desinfektion von Vaccinia-Viren in Kaninchenborken bzw. an der Hand

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B. 164, 45 - 63 (1977)

SELLERS, R. F.

Quantitative aspects of the spread of foot-and-mouth disease

Vet. Bull. 41, 431 - 439 (1971)

SELLERS, R. F.

Bluetongue in Cyprus

Austr. Vet. J. 51, 198 - 203 (1973)

SELLERS, R. F., D. F. BARLOW, A. I. DONALDSON, K. A.

HERNIMAN, J. PARKER

Foot-and-mouth disease a case study of airborne disease

In: HERS und WINKLER, Airborne transmission and airborne infection

Osthoek Publishing Comp., Utrecht, Netherlands (1973)

SELLERS, R. F., K. A. J. HERNIMAN

The airborne excretion by pigs of swine vesicular disease virus

J. Hyg. Camb. 72, 61 - 65 (1974)

SELLERS, R. F., J. PARKER

Airborne excretion of foot-and-mouth disease virus

J. Hyg. Camb. 67, 671 - 677 (1969)

SIDWELL, R. W., G. J. DIXON, E. McNeil

Quantitative studies on fabrics as disseminators of viruses. I. Persistence of vaccinia-virus on cotton and wool fabrics

Appl. Microbiol. 14, 55 - 59 (1966)

SPAERMAN, C.

Zitiert nach KÄRBER, G., Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche

Arch. exp. Path. Pharmac. 162, 480 (1931)

SPICHER, G.

Grundlagen der Desinfektion und der Desinfektionsmittelp-rüfung. Ein Beitrag zu speziellen Problemen

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 157, 392 - 405 (1973)

SPICHER, G., J. PETERS

Resistenz mikrobieller Keime gegenüber Formaldehyd

I. Vergleichende quantitative Untersuchungen an einigen ausgewählten Arten vegetativer Bakterien, bakterieller Sporen, Pilze, Bakteriophagen und Viren

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 163, 486 - 508 (1976)

SPINER, D. R., R. K. HOFFMANN

Method for disinfecting large enclosures with β -propiolactone vapor

Appl. Microbiol. 8, 152 - 155 (1960)

SPROCKHOFF, H. v., H. J. MARSCHALL

Zur Tenazität viraler Krankheitserreger - Eine Literaturstudie

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 91, 213 - 252 (1984)

SPROCKHOFF, H. v., H. MÜLLER

Betrachtungen zur Aerobiologie und zum "open-air" - Faktor
Wehrmed. Mschr. 22, 232 - 234 (1978)

SPRÖSSIG, M., H. MÜCKE

Über die antimikrobielle Wirkung der Peressigsäure
5. Mitteilung: Untersuchungen zur viruziden Wirkung
Die Pharmazie 23, 665 (1968)

THIEL, N.

Zum Einfluß von Stallklimafaktoren auf die Desinfektion
Tierärztl. Umschau 32, 200 - 204 (1977)

THIEL, N.

Die Bedeutung der Temperatur bei der Desinfektion
Dtsch. tierärztl. Wschr. 84, 356 - 364 (1977)

Tichacek, B.

Peressigsäure

In: HORN, H., M. PRIVORA, W. WEUFFEN, Handbuch der Desinfektion und Sterilisation, 162 - 177

VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin (1972)

TRAUTWEIN, K., G. KRÜGER

Desinfektion in der Veterinärhygiene - Theorie und Praxis
Tierärztl. Umschau 32, 3 - 12, 60 - 74, 124 - 132, 185 - 200, 254 - 260, (1977)

TRENNER, P., A. Steiger, W. KURZWEG

Die Wirksamkeit dekontaminierender Substanzen als Aerosol
Mh. f. Vet. Med. 32, 778 - 781 (1977)

TROUWBORST, T., J. C. DE JONG

Surface inactivation, an important mechanism of aerosol inactivation for viruses, inactivated at high relative humidity

In: HERS, J. E., K. C. WINKLER, Airborne transmission and airborne infection, 137 - 140

Osthoeck Publishing Comp., Utrecht, Netherlands (1973)

TROUWBORST, T., J. C. DE JONG

Interaction of some factors in the mechanism of inactivation of bacteriophage MS₂ in aerosols

Appl. Microbiol. 26, 252 - 257 (1973)

TROUWBORST, T., J. C. DE JONG, K. C. WINKLER

Mechanism of inactivation in aerosols of bacteriophage T₁

J. gen. Virol. 15, 235 - 242 (1972)

TROUWBORST, T., S. KUYPER

Inactivation of bacteriophage T₃ in aerosols. Effect of prehumidification on survival after spraying from solutions of salt, peptone and saliva

Appl. Microbiol. 27, 834 - 837 (1974)

TROUWBORST, T., S. KUYPER, J. C. DE JONG, A. D. PLATINGA

Inactivation of some bacterial and animal viruses by exposure to liquid-air interfaces

J. gen. Virol. 24, 155 - 164 (1974)

TROUWBORST, T., K. C. WINKLER

Protection against aerosol-inactivation of bacteriophage T₁ by peptides and amino acids

J. gen. Virol. 17, 1 - 11 (1972)

WALLHÄUSSER, K. H.

Sterilisation - Desinfektion - Konservierung

Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1978)

WATKINS, H. M. S., L. J. GOLDBERG, E. F. DEIG

Studies on viral aerosols: Survival of four viruses as a function of temperature, relative humidity and aerosol age
Techn. Progr. Rep. AB-7; Naval Biological Laboratory
NMRU No. 1, Oakland, Calif. (1963)

WATKINS, H. M. S., L. J. GOLDBERG, E. F. DEIG, W. R. LEIF
Behaviour of Colorado thick fever, vesicular stomatitis, neurovaccinia and encephalomyocarditis viruses in the airborne state

Proc. 1 st Intern. Symp. Aerobiol., Berkeley, Calif.
381 - 388 (1963)

WEKERLE, J. H., H. MACK, D. STRAUCH

Isolierung des Erregers der Aujeszky'schen Krankheit (Herpes suis) aus der Stallluft und den Exkrementen infizierter Bestände

Proceedings of the 5 th International Congress
on Animal Hygiene, Hannover (1983)

WEUFFEN, W., H. WIGERT, J. FRIEDEMANN, I. TREUHOFF, D. GRUBE
Begriffe auf den Gebieten der Desinfektion, Keimzahlreduzierung und Entwesung

In: HORN, H., M. PRIVORA, W. WEUFFEN, Handbuch der Desinfektion und Sterilisation, Bd. I, 42 - 61
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin (1972)

WEXLER, A., S. HASEGAWA

Relative humidity - temperature relationships of some saturated salt solutions in the temperature range 0°C - 50°C
Journal of Research of the National Bureau of Standards
53 (1954)

WILKINSON, P. J., A. I. DONALDSON, A. GREIG, W. BRUCE
Transmission studies with african swine fever virus
J. comp. Path. 87, 487 - 495 (1977)

L e b e n s l a u f

- 1959 geboren am 19. Juli in Bad Königshofen i. Gr.
als drittes Kind des Landwirtes Wendelin
Heusinger und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Bieber.
- 1965 - 1970 Besuch der Volksschule
- 1970 - 1979 Besuch des Gymnasiums Bad Königshofen i. Gr.,
humanistischer Zweig, Abitur
- 1979 - 1980 Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians
Universität München
- 1980 - 1981 Ableistung des Grundwehrdienstes in Tauber-
bischofsheim
- 1981 - 1986 Fortsetzung des Tiermedizinstudiums in München,
Staatsexamen und Approbation

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr danke ich an dieser Stelle für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes in seinem Institut.

Herrn Prof. Dr. H. Mahnel gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas sowie die jederzeit gewährte freundliche Unterstützung und Beratung bei der Durchführung der Arbeit.

Allen Mitarbeitern des Institutes, die mich bei meiner Arbeit unterstützt haben, danke ich für die gern gewährte Hilfe.

